

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**Departamento de Estomatología III
(Medicina y Cirugía Bucofacial)**



**ESTUDIO DE LA APLICACIÓN CLÍNICA DEL B-FOSFATO
TRICÁLCICO EN ALVEOLOS FRESCOS
POSTEXTRACCIÓN HUMANOS: ESTUDIO CLÍNICO E
HISTOLÓGICO**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Marta Muñoz Corcuera

Bajo la dirección del doctor

Antonio Bascones Martínez

Madrid, 2012

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y CIRUGÍA BUCOFACIAL



**ESTUDIO DE LA APLICACIÓN CLÍNICA DEL β -FOSFATO
TRICÁLCICO EN ALVEOLOS FRESCOS POSTEXTRACCIÓN
HUMANOS: ESTUDIO CLÍNICO E HISTOLÓGICO**

TESIS DOCTORAL

2011

MARTA MUÑOZ CORCUERA

DIRECTOR: DR. ANTONIO BASCONES MARTÍNEZ

A mi marido, mis hijas y mis padres

AGRADECIMIENTOS:

Al Dr. Antonio Bascones, por su dedicación, su paciencia y su inestimable ayuda en esta etapa de mi vida, que tanto a nivel personal como profesional ha sido la mejor.

A Miguel Souto, a Olga Rodríguez y al equipo de Keramat, sin cuya intervención este trabajo no hubiera sido posible.

Al Dr. Jaime Franco, por la calurosa acogida en Santiago de Compostela y sus valiosísimas explicaciones sobre el protocolo de la lámina delgada.

A los cirujanos participantes en el trabajo: Dr. Bascones, Dra. Corcuera, Dr. Perea, Dra. García, Dr. Ripollés. Sin ellos, este estudio nunca hubiera visto la luz.

A Carmen Bravo, por su ayuda con la estadística y sus posteriores explicaciones.

A mi madre, no sólo por ser una de las mejores cirujanas participantes en este estudio, sino también por aguantar mis agobios, mis llantos y mis alegrías, en definitiva, por ser mi madre.

A mi padre, por enseñarme cual es el verdadero valor de las cosas bien hechas.

A mis hermanos, que aunque no lo parezca, siempre están ahí y siempre tienen la palabra adecuada para sacarme una sonrisa.

A mi marido, por entender todos esos ratos que le he robado a causa de este trabajo, por ser mi apoyo incondicional, por su ayuda, su cariño, y por enseñarme a levantarme ante las adversidades.

A mis dos niñas, el motivo fundamental que me da fuerzas para seguir adelante.

Esta tesis doctoral fue subvencionada mediante una beca predoctoral del programa de formación del profesorado universitario (FPU) concedida por el Ministerio de Educación (nº AP2008-00011); y mediante un proyecto de la Fundación Universidad-Empresa (47/2009) firmado con Keramat.

ÍNDICE

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	HUESO	1
1.1.1	Composición del hueso	1
1.1.2	Tipos de tejido óseo	1
1.1.3	Organización estructural del hueso	2
1.1.4	Células óseas	4
1.1.5	Formación ósea	6
1.1.6	Funciones del hueso.....	7
1.2	DEFECTOS ÓSEOS DE LOS MAXILARES	9
1.2.1	Reabsorción alveolar post-extracción	9
1.2.2	Técnicas de preservación alveolar	12
1.3	INJERTOS ÓSEOS.....	16
1.4	CERÁMICAS A BASE DE FOSFATOS CÁLCICOS	26
1.4.1	Generalidades	26
1.4.2	Clasificación de los fosfatos cálcicos	28
1.4.3	Cerámicas usadas para reconstrucción ósea	30
1.4.4	Mecanismo de integración de las cerámicas con el hueso vivo: Biomineralización. Intercambios iónicos en las cerámicas.....	33
1.4.5	Bioactividad de las cerámicas.....	39
1.5	β -FOSFATO TRICÁLCICO	50
2.	HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS.....	63
2.1	HIPÓTESIS DE TRABAJO	63
2.2	OBJETIVOS	64
3.	MATERIAL Y MÉTODOS	66
3.1	TIPO DE ESTUDIO.....	66

3.2	PACIENTES	66
3.3	DISEÑO DEL ESTUDIO	69
3.4	VARIABLES ESTUDIADAS.....	84
3.5	RECOGIDA DE DATOS	86
3.6	ANÁLISIS DE LOS DATOS	87
4.	RESULTADOS	89
4.1	VARIABLES RELATIVAS AL INDIVIDUO	89
4.2	VARIABLES CLÍNICAS.....	91
4.3	VARIABLES HISTOLÓGICAS	92
4.4	VARIABLES HISTOMORFOMÉTRICAS.....	96
5.	DISCUSIÓN.....	109
6.	CONCLUSIONES	133
7.	ANEXOS	135
	Anexo 1.....	135
	Anexo 2.....	136
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	139
9.	TRABAJOS DERIVADOS DE LA TESIS	162
10.	TRABAJOS PUBLICADOS EN EL PERIODO DE BECA FPU.....	177

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 HUESO

1.1.1 Composición del hueso

El hueso es un tejido conectivo mineralizado especializado que contiene principalmente fosfato cálcico (45%), además de agua (30%) y una matriz orgánica (25%). La matriz mineral está formada por cristales de hidroxiapatita de baja cristalinidad y deficiente en calcio ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), el agua está contenida principalmente en la sangre y en la médula ósea; y la matriz orgánica se compone principalmente de colágeno tipo I. El resto de la matriz orgánica está compuesto por osteonectina, osteocalcina, proteína morfogénica del hueso, proteoglicano óseo y sialoproteína ósea (Ten Cate 1986). El ratio de componentes inorgánicos / orgánicos es de aproximadamente 75 / 25 en peso y 65 / 35 en volumen (LeGeros 2002).

1.1.2 Tipos de tejido óseo

Existen dos tipos de tejido óseo bien diferenciados, presentes en todos los huesos del organismo; el hueso compacto y el hueso esponjoso o trabecular (Fawcett 1995, LeGeros 2002, Ten Cate 1986) (Figura 1).

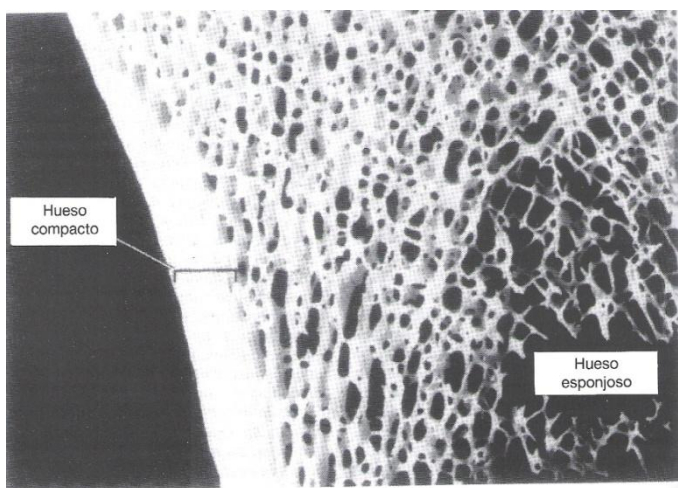


Figura 1. Corte grueso por desgaste de la tibia que muestra el hueso compacto cortical y el retículo de trabéculas del hueso esponjoso (Tomada de Fawcett 1995)

El hueso compacto forma la capa externa de todos los huesos, es un tejido muy organizado que supone el 80% del peso de los huesos y que les otorga su resistencia por poseer un menor porcentaje de materia orgánica. El tamaño de los poros en este tipo de hueso varía entre 1 y 100 μm .

El hueso esponjoso es un tejido de tipo reticular, con espacios interconectados por los vasos sanguíneos y que está en contacto con la médula ósea. Supone el 20% del peso de los huesos, siendo su volumen diez veces mayor que el del hueso compacto. El tamaño de los poros en el hueso esponjoso varía entre 200 y 400 μm . El tamaño de los poros, su extensión y sus interconexiones son factores importantes que afectan a la difusión de los nutrientes, la adhesión, migración y expresión celular y al crecimiento tisular, necesarios para la formación ósea, la reparación o la regeneración.

1.1.3 Organización estructural del hueso

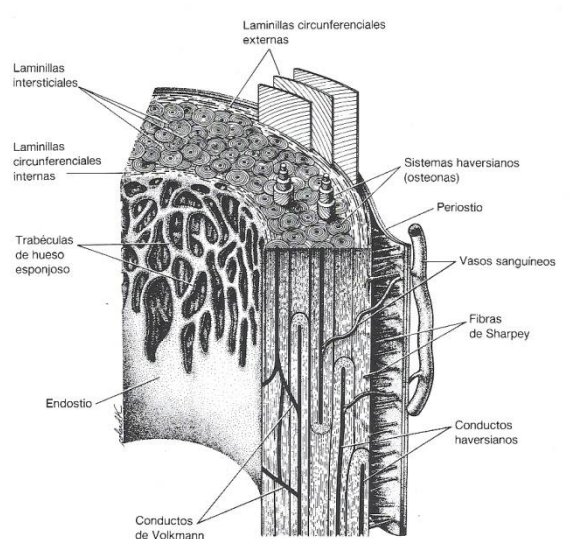


Figura 2. Organización estructural del hueso (Tomada de Fawcett 1995).

Los huesos adultos, ya sean compactos o esponjosos, son histológicamente idénticos puesto que están compuestos por capas microscópicas o laminillas, que en el hueso compacto se encuentran estrechamente empaquetadas. Se reconocen tres tipos

de laminillas: circunferenciales, concéntricas e intersticiales. Las laminillas circunferenciales rodean todo el hueso adulto, formando su perímetro. Las laminillas concéntricas conforman gran parte del hueso compacto y forman la unidad metabólica básica del hueso compacto, llamada osteona (Figura 2). La osteona es un cilindro de hueso, generalmente orientado a lo largo del eje mayor. En el centro de cada osteona, el conducto de Havers está recubierto por una única capa de osteoblastos que cubren la superficie y cada conducto aloja un capilar. Los conductos de Havers adyacentes se encuentran interconectados por los conductos de Volkman, los cuales, al igual que los de Havers contienen vasos sanguíneos, creando de esta manera una rica red vascular a través del hueso compacto. Entremezcladas entre las laminillas concéntricas adyacentes, y llenando los espacios que hay entre ellas, se encuentran las laminillas intersticiales, que son fragmentos de laminillas concéntricas preexistentes, las cuales adoptan multitud de formas (Ten Cate 1986).

Rodeando el perímetro del hueso compacto hay una membrana de tejido conectivo osteogénico llamada periostio. La capa del periostio más cercana a la superficie ósea es más celular, mientras que el periostio externo es más fibroso. Originándose en esta capa externa, las fibras de Sharpey penetran en la capa celular del periostio extendiéndose dentro de las laminillas circunferenciales. La superficie interna del hueso compacto y la superficie del hueso esponjoso se recubren por el endostio, una única capa de células que separa físicamente la superficie del hueso de la médula ósea ubicada en su interior (Ten Cate 1986).

1.1.4 Células óseas

Son células de linaje mesenquimal que se encuentran en el interior del periostio, endostio y médula ósea. Clásicamente se describen tres tipos de células: osteoblastos, osteocitos y osteoclastos:

a) Osteoblastos

Son células óseas inmaduras de origen mesenquimal, responsables de la formación de la matriz osteoide y de la coordinación del proceso de reabsorción y formación ósea. Además secretan hormonas como la fosfatasa alcalina y la hormona paratiroidea, importantes en el metabolismo óseo (Fawcett 1995) (Figura 3).

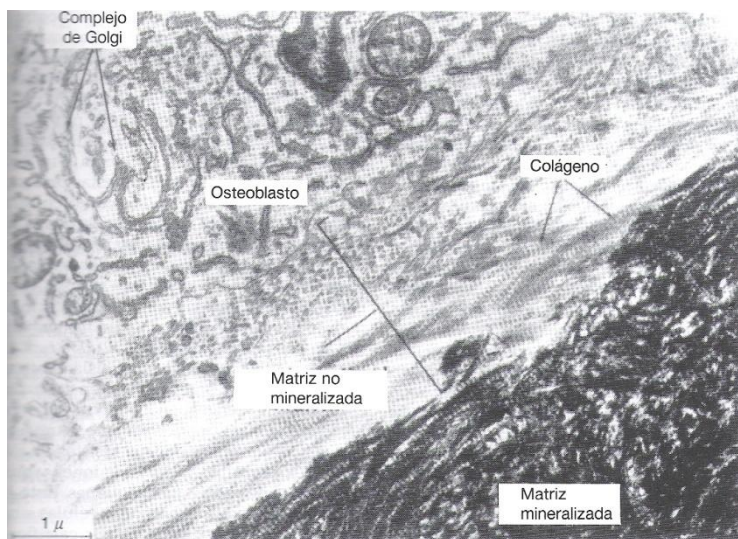


Figura 3. Borde de un canal de reabsorción que está siendo rellenado por hueso laminar. Arriba a la izquierda hay una parte de un osteoblasto. (Tomada de Fawcett 1995)

b) Osteocitos

Son células óseas maduras que se encuentran en el interior de una laguna osteocitaria rodeada por matriz extracelular calcificada. Todos los osteocitos se encuentran conectados entre sí mediante prolongaciones que se extienden por los canalículos de la matriz vecina, de forma que son sensibles a estímulos externos y a los esfuerzos a los que se somete al hueso (Fawcett 1995) (Figura 4).

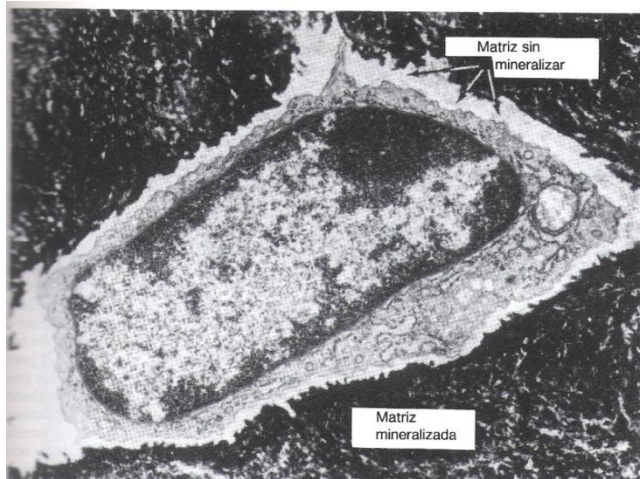


Figura 4. Micrografía electrónica de un osteocito en su laguna (Tomada de Fawcett 1995).

c) Osteoclastos

Son células óseas alojadas en las lagunas de Howship, las cuales se deben a la acción erosiva de la célula sobre el hueso subyacente, y cuya actividad consiste en reabsorber matriz ósea. Su actividad está regulada por los osteoblastos (Fawcett 1995) (Figura 5).

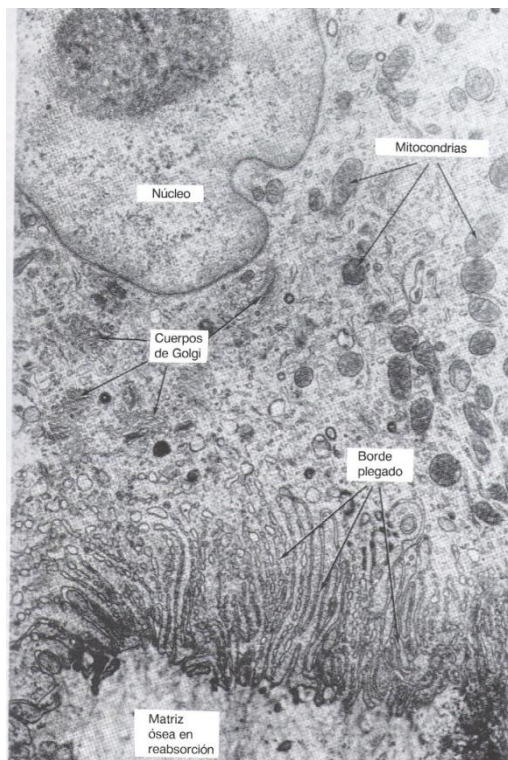


Figura 5. Micrografía electrónica de parte de un osteoclasto (Tomada de Fawcett 1995).

1.1.5 Formación ósea

El hueso se forma de tres maneras diferentes: formación endocondral, intramembranosa y sutural. La osificación endocondral tiene lugar sobre un modelo de matriz cartilaginosa, el cartílago precede inmediatamente al hueso. La osificación intramembranosa ocurre de manera directa dentro del tejido conectivo. La formación de hueso sutural es un caso especial de osificación intramembranosa en la cual el hueso se ha formado a lo largo de los bordes de las suturas (Ten Cate 1986).

El tipo de crecimiento que tiene lugar a lo largo de todos los procesos de remodelación y formación de tejido óseo en los individuos adultos es el crecimiento intramembranoso. Éste es un crecimiento en el cual la mineralización se va produciendo por la sucesiva cristalización de la hidroxiapatita en el interior de una matriz de colágeno. En un adulto, se renueva alrededor de un 5% del hueso compacto y el 20% del hueso esponjoso cada año (Ten Cate 1986), y respecto a esto se han formulado varias leyes (Allegrini 2008):

Ley de Wolff de adaptabilidad mecánica del hueso (1869): El hueso es un tejido complejo y en constante cambio capaz de autorrepararse y adaptarse a cargas nuevas. Los estímulos mecánicos de presión y tensión mediados por la presencia de los elementos dentales permiten el mantenimiento de la forma y la densidad del hueso.

Ley de la transformación del hueso (1884): El hueso se crea donde es necesario y se reabsorbe donde ya no lo es (esto es lo que ocurre ante la pérdida dentaria en el proceso alveolar maxilar y mandibular).

Así, la estimulación biomecánica es la que determina que el hueso crezca o sea reabsorbido, de manera que ante una sobrepresión se da una activación osteoblástica

y un crecimiento a favor de tensión, y ante una falta de presión se da una activación osteoclástica y una reabsorción por falta de tensión. En el hueso cortical, la remodelación se produce desde el interior del hueso; en el hueso esponjoso, por el contrario, la remodelación se produce a través de la superficie exterior de las trabéculas.

Además, el hueso tiene sus propios mecanismos de reparación que se ponen en marcha por ejemplo, en los casos de fracturas. Sin embargo, por encima de un determinado tamaño en el defecto, el proceso natural de consolidación y reparación de una fractura ósea fracasa y el hueso no es capaz de cubrir dicha merma. El tamaño crítico del defecto, por encima del cual no funciona el mecanismo de reparación natural va a depender de la edad del sujeto, el sexo y el metabolismo del mismo.

1.1.6 Funciones del hueso

El hueso es el depósito de calcio y fósforo del cuerpo. En el cuerpo hay alrededor de 1-2 Kg de calcio y aproximadamente 1 Kg de fósforo. Apenas el 1% del calcio se encuentra en tejidos blandos y fluidos fisiológicos. La cantidad de calcio en sangre y fluidos permanece constante mediante un equilibrio que se establece entre los huesos y la sangre. El 85% del fósforo se encuentra en los dientes y en los huesos, encontrándose únicamente un 0,1% del fósforo en el torrente sanguíneo (Fawcett 1995).

Los procesos bioquímicos en los que está implicado el calcio son:

- Excitación neuromuscular.
- Coagulación de la sangre.
- Dinámica de la membrana celular.

- Mensajero secundario en la transmisión de señales.

Los procesos bioquímicos en los que está implicado el fósforo son:

- Forman parte de los fosfolípidos de las membranas celulares.
- Fabricación de ADN y ARN.
- Responsable del almacenamiento de energía (ATP/ADP).

Para mantener los niveles de calcio en sangre existen mecanismos hormonales, fisiológicos y físico-químicos. Entre otras, la hormona paratiroidea y la calcitonina actúan sobre los mecanismos de liberación de calcio por reabsorción ósea, sobre la excreción de calcio en la orina y sobre la síntesis de vitamina D para la absorción de calcio a nivel intestinal. Es importante recordar que cada vez que se destruye hueso para liberar calcio, se libera el fósforo asociado (Fawcett 1995).

1.2 DEFECTOS ÓSEOS DE LOS MAXILARES

En condiciones normales el hueso sano está llevando a cabo continuamente procesos de remodelación ósea. La remodelación ósea consiste en un equilibrio continuado de creación y destrucción de hueso; es un proceso dinámico y continuado que adapta el hueso a esfuerzos localizados (Allegrini 2008). Debido a ello, el hueso tiene la capacidad de autorrepararse. Sin embargo, existe un tamaño de defecto crítico, a partir del cual, el hueso no es capaz de emprender la reparación empleando los procesos de osteogénesis propios. Por tanto, cuando el defecto es de un tamaño mayor que el defecto crítico, se hace necesario el empleo de algún tipo de injerto óseo (Khan 2008).

Los defectos óseos de los maxilares obedecen a causas muy variadas, como pueden ser las resecciones quirúrgicas, las pérdidas traumáticas, la dificultad de osificación en edades avanzadas, las enfermedades periodontales y periimplantarias, los defectos congénitos, etc. Estos defectos pueden dificultar la fase quirúrgica del tratamiento implantológico al encontrar un insuficiente volumen óseo para la adecuada colocación de los implantes dentales (Bascones 2001, Lekovic 1997, Tripplet 2000, Zijderveld 2005).

1.2.1 Reabsorción alveolar post-extracción

Entre estas causas de pérdida ósea, son muy frecuentes los defectos óseos maxilares causados por la reabsorción alveolar post-extracción; éste es un fenómeno fisiológico que ocurre tras la extracción dentaria por el cual la cresta ósea alveolar ve disminuida su altura y su anchura original, en una cantidad que puede variar entre distintas localizaciones e individuos (Darby 2008, Palti 2002). La pérdida de la dentición

natural da lugar a una reducción de la estimulación física del hueso alveolar, produciéndose una reabsorción ósea que es irreversible, crónica y acumulativa (Allegrini 2008).

La curación de un alveolo tras una extracción dentaria se caracteriza por cambios internos, que conducen a la formación de hueso en el interior del alveolo, y cambios externos que conducen a la pérdida de la altura y anchura de la cresta alveolar (Darby 2008). Esta reabsorción es el punto final de un proceso que pasa por varias fases (Bascones 2001, Darby 2008). Los cambios internos del alveolo se caracterizan por las siguientes etapas:

- A las 24 horas, el alveolo se rellena por un coágulo sanguíneo, proceso seguido de una hemólisis y del inicio de un proceso inflamatorio.
- A los dos / tres días tiene lugar el reemplazo del coágulo por un tejido de granulación rico en fibras colágenas y vasos sanguíneos.
- A los cuatro días se observa un aumento del número de fibroblastos, así como una proliferación del epitelio desde el margen de la herida. También aparecen osteoclastos que empiezan a reabsorber el hueso.
- A la semana encontramos un tejido de granulación con una gran red vascular, un tejido conectivo joven, osteoide en la porción apical del alveolo y una cubierta epitelial sobre la herida.
- A las tres semanas se observan un tejido conectivo denso y trabéculas de hueso neoformadas. Esa formación de hueso tiene su máxima densidad radiográfica alrededor de los 100 días.

- A los dos meses ya hay un relleno de hueso completo, pero se debe tener en cuenta que la anchura del alveolo original no se alcanza, pudiendo complicar la colocación posterior de implantes dentales en esa zona por la existencia de una altura y anchura de hueso insuficiente.

Hay varios factores que pueden afectar este proceso. El tamaño del alveolo es importante, puesto que los más anchos necesitarán más tiempo que los estrechos para rellenarse. Los alveolos de dientes con pérdida de hueso horizontal curan más rápido debido al menor nivel de hueso que deben alcanzar (Darby 2008).

Este proceso reparativo descrito tras la extracción del diente presenta dos fenómenos importantes, el proceso de reabsorción osteoclástica y la interrupción de la vascularización aportada al alveolo a través del ligamento periodontal. Ambos producen una tendencia a la reabsorción del alveolo dentario, sobre todo en las zonas de escaso grosor como las regiones vestibulares en los sectores anteriores superiores e inferiores (Bascones 2001).

La reabsorción de los maxilares tras la pérdida dentaria es mayor durante el primer año, y ocurre a una velocidad más acusada durante los tres primeros meses. Se han encontrado grandes diferencias entre el maxilar y la mandíbula, siendo la tasa de reabsorción cuatro veces mayor en la mandíbula que en el maxilar (Allegrini 2008).

Esta reabsorción ósea va a dar lugar a los llamados defectos de la cresta alveolar. Aunque existen diferentes clasificaciones para estos defectos, la más clara los clasifica en: (1) Defectos de clase I cuando la pérdida se produce en sentido buco-lingual con una altura en sentido apico-coronal normal; (2) defectos de clase II son

aquellos en que la pérdida se produce en sentido apico-coronal, conservando el grosor buco-lingual; y (3) defectos de clase III son una combinación de los dos anteriores que resulta en una pérdida de altura y de anchura (McAllister 2007).

1.2.2 Técnicas de preservación alveolar

A este respecto, y debido al problema clínico que ocasiona la reabsorción de la cresta alveolar, especialmente en las zonas estéticas, se han desarrollado las técnicas de preservación alveolar. Éstas engloban cualquier tipo de procedimiento llevado a cabo al tiempo de la extracción o posteriormente, que está diseñado para minimizar la reabsorción externa de la cresta y maximizar la formación ósea dentro del alveolo (Darby 2008). Lo más habitual son las técnicas de aumento óseo consistentes en la realización de extracciones lo más atraumáticas posible seguidas de la colocación de un material de injerto óseo con o sin barrera en el alveolo dentario vacío para la prevención de la reabsorción alveolar post-extracción, facilitando de esta manera la colocación posterior de implantes dentales en esa zona (Allegrini 2008). Como se desprende de la revisión de Darby y cols (Darby 2009), éstas técnicas son efectivas en cuanto a la limitación de alteraciones tanto de la anchura como de la altura de la cresta alveolar, sin que exista una técnica que ofrezca mejores resultados que otra. En el lado opuesto, también hay autores que han cuestionado el uso de biomateriales en el interior de alveolos frescos postextracción debido a que parece que interfieren con el proceso de curación normal (De Coster 2011)

Las indicaciones de la preservación alveolar serían (Darby 2008):

- Si se planea colocar implantes pasadas las 6-8 semanas desde la exodoncia.

- Cuando se realizan extracciones en sitios estratégicos aunque no se considere la opción de colocar un implante en un futuro inmediato, para dejar abierta la posibilidad de poder colocarlo más adelante.
- En zonas de púnticos de prótesis fija tradicional por razones estéticas.
- Zonas en las que la cortical vestibular tiene un grosor menor de 1,5-2 mm, y zonas en las que se hayan dañado o perdido paredes alveolares.
- Zonas en las que es crítico mantener el volumen óseo para minimizar el riesgo de dañar estructuras anatómicas (ej. Seno maxilar o nervio mentoniano).
- Pacientes con altas demandas estéticas (sonrisa gingival o biotipo fino).
- Pacientes a los que se les deben extraer varios dientes y en los que la preservación ósea es importante para la posterior restauración.

La colocación de materiales de injerto particulados con o sin barrera busca interferir el proceso de invaginación epitelial desde los bordes del alveolo al interior del mismo. Hay autores que señalan que esta técnica podría no ser siempre beneficiosa, aunque se dan buenos resultados en la zona anterior del maxilar y en defectos del hueso periapical. Las dificultades que se encuentran en estos procedimientos son el cierre del tejido blando y la contención del material de relleno en el interior del alveolo (Bascones 2001, McAllister 2007).

Darby y cols, en su trabajo de 2008 (Darby 2008) proponen una serie de preguntas que deberían hacerse ante la necesidad de realizar una extracción dentaria en cuanto a la preservación alveolar (Figura 6) y una serie de preguntas en cuanto a la selección del material a utilizar para la preservación alveolar (Figura 7).

Otra opción a considerar en la preservación alveolar es la colocación de implantes inmediatos en el mismo acto quirúrgico que la exodoncia. Esta técnica es muy sensible al manejo clínico del cirujano y sólo se emplea cuando se puede conseguir una buena estabilidad primaria del implante. Puede ser combinada con el uso de injertos particulados que rellenen el espacio vacío entre implante y alveolo dentario en ciertas zonas, y se discute sobre si es beneficiosa o no la colocación adicional de una membrana (Bascones 2001, El Helow 2008, McAllister 2007).

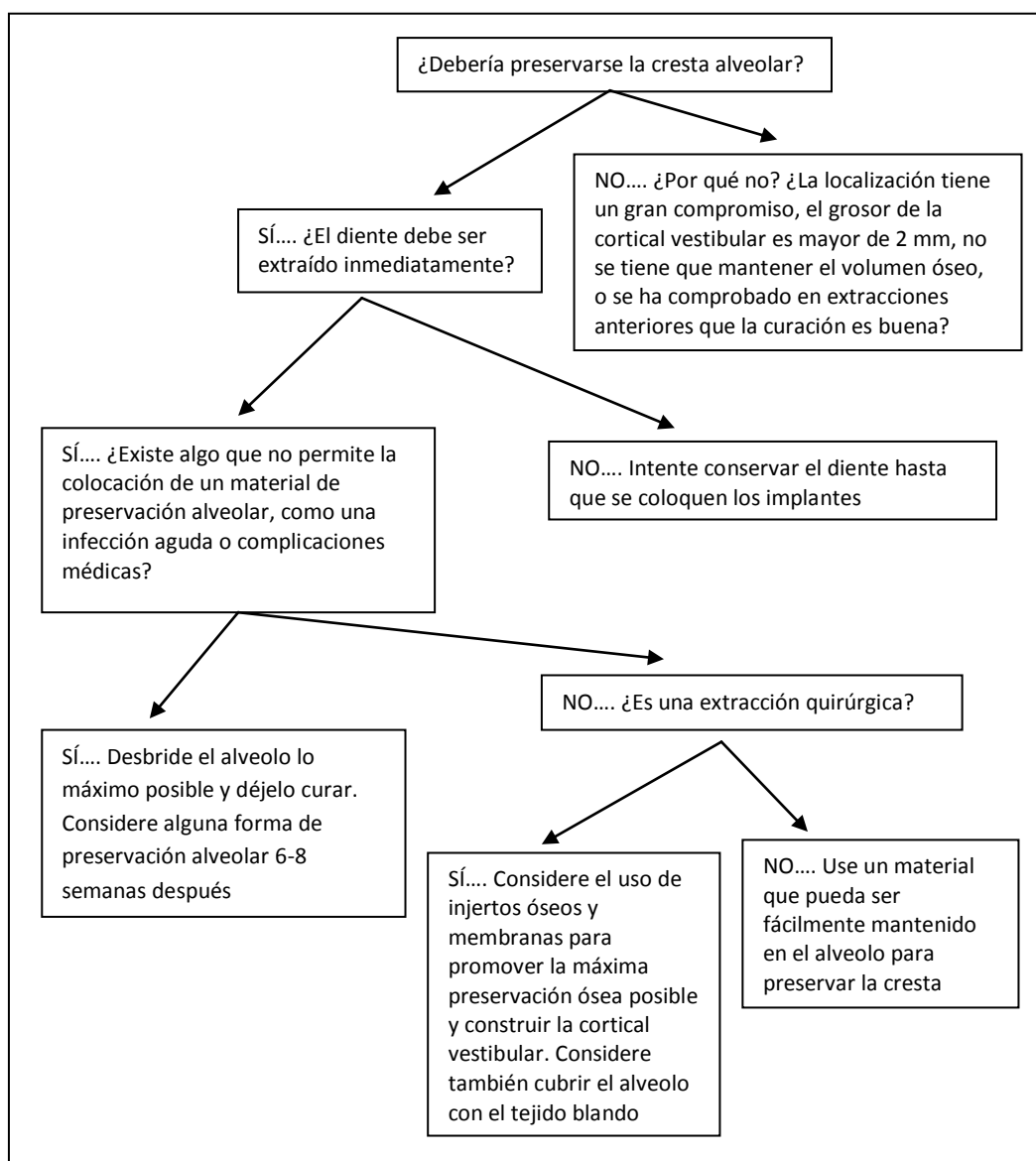


Figura 6. Preguntas que el odontólogo debería formularse antes de realizar una extracción dentaria en cuanto a la preservación alveolar. (Adaptado de Darby 2008).

Las grandes ventajas que presentan los implantes inmediatos son el acortamiento de los tiempos hasta la colocación de la prótesis definitiva y la reducción del número de actos quirúrgicos (Bascones 2001, El Helow 2008, McAllister 2007, Velasco Ortega y Pato Mourelo 2007), sin embargo hay autores que cuestionan su eficacia en la preservación de la cresta alveolar (Horowitz 2009).

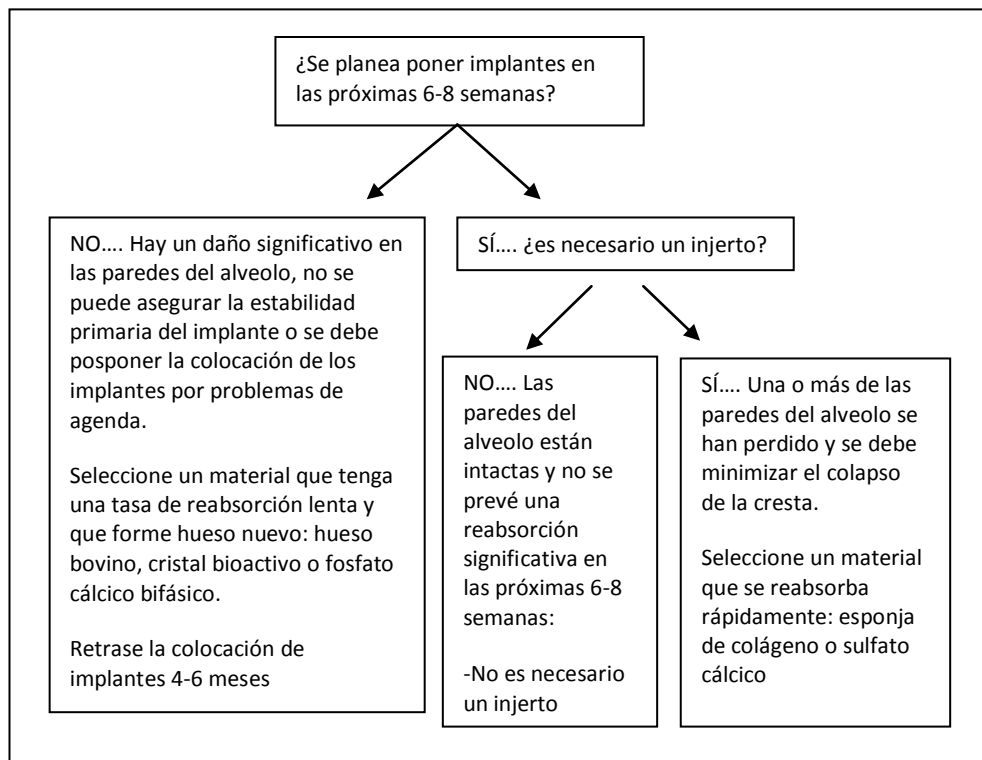


Figura 7. Preguntas a realizar en cuanto a la selección del material de injerto para realizar la preservación alveolar. (Adaptado de Darby 2008).

1.3 INJERTOS ÓSEOS

Un injerto se define como un órgano o tejido que se utiliza para su implante o trasplante (Minsk 2005).

En la actualidad, los injertos de tejido óseo ocupan el segundo lugar en cuanto a número de trasplantes de tejidos, siendo tan sólo superados por el número de transfusiones de tejido sanguíneo (Giannoudis 2005, Shegarfi 2009).

Durante las últimas décadas se han desarrollado diversas técnicas quirúrgicas para mejorar las situaciones clínicas de falta de hueso descritas anteriormente, mediante la utilización de injertos de hueso autólogo, aloinjertos, hueso de origen animal o sustitutos óseos sintéticos; además pueden usarse ciertos factores de crecimiento, expansión de la cresta alveolar y otras terapias que se están ensayando hoy en día como las terapias genéticas. (Becker 2003, Fischer 2011, Giannoudis 2005, Le Guéhennec 2004, Sethi 2000, Tripplet 2000, Zijderfeld 2005).

Los distintos tipos de injertos óseos pueden poseer una o más de las siguientes cuatro propiedades (Giannoudis 2005, McAllister 2007):

(1) **Osteogénesis:** viene dada por la presencia en el propio injerto de células con capacidad de diferenciarse a osteoblastos y osteocitos.

(2) **Osteoinducción:** es la capacidad de estimular las células mesenquimales del huésped para diferenciarse en células osteoblásticas que formen hueso. Este concepto se estableció en 1965 con la formación ósea heterotópica inducida por la familia glicoproteica de los morfogenes, conocidas como las BMPs (proteínas morfogenéticas del hueso).

(3) **Osteoconducción:** describe la facilitación y orientación de los vasos sanguíneos y la creación de nuevos sistemas haversianos; es decir, sobre un soporte físico se lleva a cabo el proceso de colonización y proliferación ósea.

(4) **Osteointegración:** describe la unión de la superficie entre el hueso del huésped y el material de injerto (Tabla 1).

TABLA 1. PROPIEDADES DE LOS INJERTOS ÓSEOS		
PROPIEDAD	CARACTERÍSTICAS	MATERIAL DE INJERTO
OSTEOGÉNESIS	Contiene células vitales con capacidad osteogénica	Autoinjerto
OSTEOINDUCCIÓN	Contiene factores de crecimiento que ayudan en la nueva formación ósea	Autoinjerto
		Alloinjerto
		Xenoinjerto
OSTEOCONDUCCIÓN	Soporte para la nueva formación ósea	Autoinjerto
		Alloinjerto
		Xenoinjerto
		Aloplástico

El material de injerto óseo ideal no debería ser sólo un sustituto óseo, sino un material de regeneración que se reabsorba completamente de modo simultáneo a la formación de hueso nuevo. Además, los productos derivados de su descomposición deberían ser reutilizados para formar más hueso nuevo. Debería servir como una matriz por sus propiedades osteoconductoras para permitir la formación de hueso y preservar el espacio, previniendo la invasión del mismo por tejido blando y conectivo. Y por último no debería conllevar riesgos inmunológicos (Foitzik 2003).

Los injertos óseos se **clasifican** de la siguiente manera:

1. Autoinjertos:

Consisten en hueso del propio paciente; está considerado el material de elección, ya que obtiene los mejores resultados. Es osteogénico, al contener células osteogénicas viables y proteínas de la matriz ósea, así como osteoconductor y osteoinductor (Tabla 2), y además no provoca reacciones inmunológicas (Giannoudis 2005, Le Guéhennec 2004). Se puede obtener tanto de zonas extraorales (principalmente de la cresta iliaca) como de zonas intraorales (cresta alveolar edéntula, exóstosis, torus, tuberosidad maxilar, rama mandibular, etc....), y la elección de la zona va a determinar la reabsorción y comportamiento posterior del injerto (Minsk 2005, Schlegel 2006). Los factores que influyen en el éxito de estos injertos son: el origen embriológico del hueso utilizado, ya que sufren menos reabsorción si es de origen membranoso que si es de origen endocondral; la tasa de revascularización del injerto, que es mejor en los de hueso esponjoso que en los corticales; las características estructurales y biomecánicas, la fijación del injerto en el lecho receptor, la orientación del injerto y la disponibilidad de factores de crecimiento locales (Hallaman 2008). Por otro lado, el hueso autógeno presenta desventajas, como la morbilidad quirúrgica ocasionada en la zona donante del injerto (Kalk 1996, Nkenke 2001, Nkenke 2002, Nkenke 2004) y la disponibilidad limitada (Giannoudis 2005, Le Guéhennec 2004). Además, sufren una reabsorción considerable y tienen una viabilidad limitada debido a la falta de vascularización. Incluso hay autores, como Esposito y cols, que en su revisión sistemática del año 2006 sobre técnicas de aumento óseo, ponen de manifiesto que el hueso autógeno podría no ser siempre la mejor elección (Esposito

2006). Estas desventajas son las que han obligado a los clínicos e investigadores a desarrollar diversos sustitutos óseos que puedan utilizarse con éxito en el tratamiento implantológico con compromiso óseo (Giannoudis 2005, Jensen 1996, Kalk 1996, Norton 2002, Schnettler 2004).

2. Aloinjertos:

Consisten en tejido óseo procedente de un donante de la misma especie (Hallman 2008). Se obtienen de bancos de tejidos humanos y normalmente se producen en dos formas, congelado deshidratado y congelado deshidratado descalcificado, porque son las formas que producen menor inmunogenicidad. Suelen ser la segunda opción, pero tienen limitaciones, como son los resultados clínicos variables y la potencialidad para transmitir enfermedades y producir reacciones inmunológicas.

TABLA 2. Características de los autoinjertos y aloinjertos (Adaptada de Giannoudis 2005)				
<i>Injerto óseo</i>	<i>Fuerza estructural</i>	<i>Osteoconducción</i>	<i>Osteoinducción</i>	<i>Osteogénesis</i>
<u>Autoinjerto</u>				
Esponjoso	No	+++	+++	+++
Cortical	+++	++	++	++
<u>Aloinjerto</u>				
Esponjoso				
<i>Congelado</i>	No	++	+	No
<i>Deshidratado</i>	No	++	+	No
Cortical				
<i>Congelado</i>	+++	+	No	No
<i>Deshidratado</i>	+	+	No	No

Son osteoconductores, y en pequeña cantidad, osteoinductores, pero no osteogénicos, ya que no contienen células viables, y esto último es lo que ocasiona que

su integración en el hueso del paciente sea más lenta que en el caso de los autoinjertos aunque el proceso sea similar (Tabla 2) (Giannoudis 2005, Hallman 2008, Le Guéhennec 2004, Minsk 2005).

3. Sustitutos óseos:

Engloban los materiales derivados del hueso, los xenoinjertos y los injertos aloplásticos. Los xenoinjertos son de origen animal y los injertos aloplásticos son un grupo químicamente diverso de biomateriales sintéticos basados en el calcio. Todos son osteoconductores, y pueden tener una pequeña capacidad osteoinductora. Se producen en varias composiciones y formas. Pueden utilizarse aislados o bien combinados con hueso autógeno o aspirados de médula ósea del propio paciente (Giannoudis 2005, Le Guéhennec 2004) (Tabla 3).

Se han desarrollado varios tipos de sustitutos óseos, incluyendo hueso animal, fosfatos cálcicos, sulfatos cálcicos, vidrios bioactivos y polímeros que se detallan a continuación (Giannoudis 2005, Le Guéhennec 2004):

TABLA 3. Sustitutos óseos (Adaptada de Giannoudis 2005)	
Características	Injertos
Osteoconducción	Sulfato de Calcio Cementos de fosfato cálcico Cerámicas Colágeno Polímeros sintéticos
Osteoinducción	Matriz ósea desmineralizada (DBM) Proteínas morfogenéticas óseas (BMPs) Factores de crecimiento Terapia genética
Osteogénesis	Aspirados de médula ósea (BMA)
Combinados	Injertos compuestos

3. a Biomateriales derivados del hueso:

- **Matriz ósea desmineralizada:**

Se obtiene descalcificando el hueso cortical. Es osteoconductora, y puede contener ciertos factores de crecimiento, lo que le confiere pequeñas propiedades osteoinductoras (Giannoudis 2005).

- **Colágeno:**

No se utiliza aislado, se suele utilizar combinado como vehículo con otros factores que tengan capacidad osteogénica, osteoconductora u osteoinductora (Giannoudis 2005).

- **Materiales derivados de hueso bovino u otros animales (xenoinjertos):**

Consisten en mineral óseo procedente de animales. El hueso bovino desproteinizado es el más utilizado en odontología debido a sus similitudes con el hueso humano. Constituyen un buen biomaterial cuando el autoinjerto no representa una opción realista, aunque los resultados clínicos obtenidos son más variables. Tienen propiedades osteoconductoras, y se forma hueso en su superficie al implantarlos en el huésped. No producen respuestas antigénicas ni inflamatorias al no contener proteínas, pero se discute su eficacia debido a su baja tasa de reabsorción y al riesgo de contaminación microbiana. Estos materiales pueden ser sometidos o no a un proceso de sinterización a unos 1000°C (la sinterización es un tratamiento térmico que transforma un producto en polvo en otro compacto y coherente; las partículas coalescen por difusión al estado sólido a muy altas temperaturas, pero por debajo del punto de fusión del compuesto que se desea sinterizar). (Hallman 2008, Le Guéhennec 2004).

- Coral y materiales derivados:

El coral consiste en una fase mineral, principalmente de carbonato cálcico en forma estructural o aragonita, con algunas impurezas, y una matriz orgánica. Tiene unas excelentes propiedades mecánicas y una arquitectura y porosidad similar a la del hueso esponjoso. Es biocompatible, osteoconductor y reabsorbible, y se comercializa para su uso clínico. Otro derivado es la hidroxiapatita coralina, que también se comercializa y es osteoconductora. Además es posible obtener cerámicas de fosfato cálcico ultraporosas de la apatita porosa de las algas. (Allegrini 2008, Giannoudis 2005, Le Guéhennec 2004).

3. b Sustitutos sintéticos (injertos aloplásticos):

Son materiales osteoconductores obtenidos mediante síntesis de laboratorio cuya composición está controlada y cuya morfología está diseñada para el proceso de regeneración ósea. Varían en su estructura, su composición química y sus propiedades mecánicas y biológicas. Algunos no son reabsorbibles y otros sí lo son, lo que conlleva la liberación de iones bioactivos (Hallman 2008).

- Cerámicas:

Son materiales sintéticos fabricados a base de fosfatos cálcicos sintéticos. Se clasifican en (1) hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), (2) fosfato tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), (3) fosfato cálcico bifásico (mezcla de hidroxiapatita y β -fosfato tricálcico) y (4) apatita no sinterizada o calcio-deficiente. Son similares en su composición al mineral óseo, bioactivos, osteoconductores y capaces de formar una interfase con una unión muy fuerte con el hueso vivo. Tienen diferentes solubilidad in vitro, lo que puede indicar su

solubilidad in vivo. Están disponibles en forma de bloques o partículas, densos o porosos (Giannoudis 2005, LeGeros 2002). Una de sus características más importantes es la porosidad; son importantes tanto la interconexión de los poros (Hsu 2007), como el tamaño de los mismos; el tamaño ideal del poro de una cerámica es similar al del hueso esponjoso. Se pueden introducir macroporosidades (añadiendo porógenos volátiles), que proporcionan una matriz para la colonización celular, o microporosidades (se obtienen por la sinterización), que permiten la circulación de los fluidos corporales. El tamaño de poro ideal de una cerámica es de 565 μm (Allegrini 2008, Giannoudis 2005, LeGeros 2002, Le Guéhenne 2004, Passutti 1997). La hidroxiapatita posee una estequiometría similar a la del mineral óseo y es bioestable colocada en el cuerpo humano por su insolubilidad, mientras que el fosfato tricálcico tiene una estequiometría similar a la de los precursores óseos amorfos y es soluble en medio fisiológico; aunque son sintéticos y no se pueden encontrar en la naturaleza, se ha comprobado que, colocados en el huésped, inducen una respuesta biológica similar a la del hueso (Fujita 2003, Giannoudis 2005, Kamitakahara 2008, Klein 1989, Passutti 1997, Vaccaro 2002). La biocompatibilidad de las cerámicas deriva de su composición química, que contiene iones comúnmente encontrados en el ambiente fisiológico (calcio, potasio, magnesio, sodio, etc.) y otros iones con poca toxicidad para los tejidos como aluminio y titanio (Wang 2003). Las cerámicas son frágiles y sólo se pueden utilizar en zonas del esqueleto que no sean sometidas a grandes cargas (Vaccaro 2002). Los fosfatos cálcicos pueden utilizarse junto a matrices de colágeno o mezclados con pegamentos de fibrina, los cuales forman una red en la que los minerales pueden cristalizar y además pueden aportar proteínas de importancia en este proceso (Hallman 2008, Takahasi 2009). También es posible su combinación con proteínas

como las BMPs o con células madre de la médula ósea del paciente (Passutti 1997, Vaccaro 2002).

- **Compuestos a base de sílice:**

Vidrios bioactivos: son materiales compuestos de calcio, fósforo y dióxido de silicio. Son duros y sólidos. Una nueva variante son las cerámicas de vidrio bioactivas, que incorporan fibras de acero inoxidable o partículas de cerámica para mejorar sus propiedades. Las cerámicas de vidrio bioactivas son biocompatibles, osteoinductoras, y se unen al hueso sin la existencia de una capa de tejido conectivo fibroso intermedia. Se han usado para relleno de defectos óseos; una vez implantadas, se produce una liberación de iones al fluido extracelular y precipitan formando una capa de apatita similar al hueso en la superficie de la cerámica, promoviendo la adhesión y proliferación de células osteogénicas en su superficie. Con el tiempo, esta capa se sustituye parcialmente por hueso. Las cerámicas ultraporosas tienen la ventaja de poseer superficies grandes, las cuales son favorables para la integración ósea. Esta porosidad proporciona una matriz en la cual se puede depositar hueso neoformado tras el crecimiento vascular y la diferenciación osteoblástica, y además es beneficiosa para la reabsorción y la bioactividad (Giannoudis 2005, Le Guéhennec 2004).

Ionómeros de vidrio: son compuestos de polvo de vidrio de calcio, aluminio y fluorosilicato mezclado con ácido policarboxílico para producir una pasta porosa que endurece a los cinco minutos. Su principal inconveniente es que no son reabsorbibles (Giannoudis 2005).

- **Sustratos osteoconductores no biológicos:**

Ofrecen ventajas como el control de la estructura final, no inmunogenicidad y excelente biocompatibilidad (Giannoudis 2005).

3.c Injertos compuestos biológicos/sintéticos: contienen una matriz sintética osteoconductora junto a células osteogénicas y factores de crecimiento, que le confieren propiedades osteogénicas y osteoinductoras. (Giannoudis 2005).

Es de especial importancia que el material utilizado sea bien tolerado y reabsorbible, con moderada o nula respuesta inespecífica, tanto en la zona de implantación, como a nivel de los ganglios linfáticos regionales, caracterizada por una activación macrofágica, que suele darse en la primera semana del implante para ir disminuyendo progresivamente hasta desaparecer. Además, el material a implantar debe ser bioactivo y osteoconductor. Esto es así porque la interfase injerto-hueso sufre inicialmente una proliferación de células mesenquimales, que más tarde es sustituida por tejido óseo trabecular que progresivamente rodea y sustituye al material implantado, sufriendo a continuación remodelación, y mostrando por último, características morfológicas y estructurales similares a las normales, con restablecimiento del funcionamiento normal del hueso. Un injerto pues, con estructura cristalina similar a la del mineral del hueso, puede llegar a unirse biológicamente a éste (Andrades 1999).

1.4 CERÁMICAS A BASE DE FOSFATOS CÁLCICOS

1.4.1 Generalidades

Las cerámicas se describen como compuestos sólidos que están formados mediante la aplicación de calor, o de calor y presión, y que comprenden al menos un elemento metálico y un sólido elemental no metálico o un no metal, una combinación de al menos dos sólidos elementales no metálicos, o una combinación de al menos dos sólidos elementales no metálicos y un no metal. En medicina se vienen utilizando cerámicas a base de fosfatos cálcicos, alúmina, sílice, zirconio y dióxido de titanio debido a sus interacciones positivas con los tejidos humanos (Habraken 2007).

La utilización de cerámicas específicamente diseñadas para la reparación, reconstrucción y reemplazo de partes dañadas o enfermas del cuerpo, supuso una revolución en cuanto al uso de las cerámicas. Las cerámicas utilizadas para este propósito también se conocen con el nombre de biocerámicas (Hench 1998).

Los compuestos de ortofosfato cálcico se han estudiado desde hace años como material de reparación ósea, y son el grupo de materiales que más se aproximan a la composición y propiedades del mineral óseo (LeGeros 2002). Al estar formada la parte rígida del hueso por un entramado de colágeno y otras proteínas mineralizadas por un fosfato cálcico similar a la hidroxiapatita, los fosfatos cálcicos similares a esta última son una buena opción para la regeneración ósea. Un reciente estudio (Markovic 2011) ha mostrado las grandes similitudes físico-químicas que existen entre la hidroxiapatita obtenida de mandíbula humana y una hidroxiapatita carbonatada sintética en polvo producida mediante precipitación química. Con la excepción del pirofosfato cálcico, la mayoría de los fosfatos cálcicos usados in vivo son ortofosfatos

cálcicos, es decir, contienen el grupo ortofosfato (PO_4^{3-}). La propiedad más importante de los fosfatos cálcicos es que son solubles en agua, lo que permite predecir su comportamiento in vivo. (Bohner 2000)

La aplicación de cerámicas de fosfato cálcico como posibles sustitutos de hueso se ha investigado por diferentes autores. Inicialmente, estos materiales no eran reabsorbibles, pero sí biocompatibles, y permitían el crecimiento del tejido óseo en el interior de sus poros. Esta propiedad bioactiva depende del intercambio iónico con el hueso huésped y los fluidos orgánicos, ya que en su proceso de degradación son capaces de liberar iones como Ca^{+2} y PO_4^{+3} y difundirse localmente estimulando la osteogénesis (osteoinducción) y permitiendo la colonización ósea en el interior de sus poros (osteoconducción) (Andrades 1999).

Como ya se ha comentado, la biocompatibilidad de las cerámicas deriva de su composición química, que contiene iones comúnmente encontrados en el ambiente fisiológico y otros iones con poca toxicidad para los tejidos (Wang 2003). No obstante, la respuesta ósea a las cerámicas de fosfato cálcico depende directamente de la naturaleza exacta de cada cerámica. Los progresos en el campo de la bioingeniería han dado como resultado nuevos biomateriales y en particular, las cerámicas de fosfato cálcico han recibido máxima atención dada su buena biocompatibilidad. Los avances continuos en el campo de los biomateriales de fosfato cálcico han producido resultados espectaculares en cuanto a su biocompatibilidad y capacidad para estimular la osteogénesis. Sin embargo, la naturaleza y grado de respuesta del tejido óseo huésped parecen depender de las características de los materiales: composición

química, textura de la superficie, porosidad y densidad, así como de la forma y el tamaño (Andrades 1999).

De modo aislado, las cerámicas sintéticas no poseen propiedades osteogénicas ni osteoinductoras, y muestran un soporte estructural mínimo. Cuando se colocan junto a hueso sano, se deposita una capa de osteoide directamente en la superficie de la cerámica, sin una interfase de tejido blando. Así, este osteoide se mineraliza y el hueso resultante es remodelado (Giannoudis 2005).

1.4.2 Clasificación de los fosfatos cálcicos

Se distinguen dos categorías de fosfatos cálcicos en general: los obtenidos por precipitación a partir de una solución acuosa a temperatura ambiente, conocidos como fosfatos cálcicos de baja temperatura, y los obtenidos por una reacción térmica, conocidos como fosfatos cálcicos de alta temperatura: (Tabla 4) (Bohner 2000)

Fosfatos cálcicos de baja temperatura:

No se utilizan como sustitutos óseos, sino para sintetizar fosfatos cálcicos de alta temperatura. Los más comunes son:

- Fosfato monocálcico monohidratado: MCPM: $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. No es biocompatible, por lo que no se puede usar como sustituto óseo aislado, aunque sí se puede si se usa combinado con α -fosfato tricálcico o β -fosfato tricálcico.
- Fosfato dicálcico: DCP: CaHPO_4 . Es biocompatible y biodegradable. Está presente en el callo de fractura, y posiblemente en el hueso vivo.

- Fosfato dicálcico dihidratado: DCPD: $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Se ha detectado en el callo de fractura, el hueso y los cálculos renales. Es biocompatible, biodegradable y osteoconductor.
- Fosfato octocálcico: OCP: $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Parece ser un precursor de la apatita presente en el hueso y los dientes. Es biocompatible, biodegradable y osteoconductor.
- Hidroxiapatita precipitada: PHA.
- Fosfato cálcico amorfo: ACP: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$

TABLA 4. Principales compuestos de fosfato cálcico. (Adaptada de Bohner 2000)

Nombre	Fórmula	Ca/P	Mineral	Símbolo
Fosfatos cálcicos de baja temperatura				
Fosfato monocálcico monohidratado	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.50	-	MCPM
Fosfato dicálcico	CaHPO_4	1.00	Monetita	DCP
Fosfato dicálcico dihidratado	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.00	Brushita	DCPD
Fosfato octocálcico	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.33	-	OCP
Hidroxiapatita precipitada (fosfato tricálcico)	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$	1.50-1.67	-	PHA
Fosfato cálcico amorfo $n = 3-4.5; 15-20\% \text{H}_2\text{O}$	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	-	ACP	
Fosfatos cálcicos de alta temperatura				
Fosfato monocálcico	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0.50	-	MCP
α -Fosfato tricálcico	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.50	-	α -TCP
β -Fosfato tricálcico	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.50	-	β -TCP
Hidroxiapatita sinterizada	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1.67	Hidroxiapatita	HA
Oxiapatita	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$	1.67	-	OXA
Fosfato tetracálcico	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2.00	Hilgenstockita	TetCP

Fosfatos cálcicos de alta temperatura:

Son los tradicionalmente usados en medicina.

- Fosfato monocálcico MCP: $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$.
- β -fosfato tricálcico: β -TCP: $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Se obtiene a temperaturas de 650°C por varios mecanismos. Difiere del fosfato tricálcico únicamente en la

estructura cristalina. Es biodegradable (por vía osteoclástica) y se usa como sustituto óseo en gránulos o bloques.

- α -fosfato tricálcico: α -TCP: α -Ca₃(PO₄)₂. Difiere del anterior en la estructura cristalina, y es mucho más soluble debido a esto, es biocompatible y más biodegradable que el β -TCP. Se utiliza como sustituto óseo en forma de gránulos, polvos y bloques.
- Fosfato cálcico bifásico: es un compuesto de β -TCP e hidroxiapatita. Es más biodegradable que la hidroxiapatita aislada.
- Hidroxiapatita: HA: Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂. Es muy cristalina, y es el fosfato cálcico más biocompatible y más estable en solución acuosa. Tarda años en degradarse, por lo que se considera no reabsorbible.
- Oxiapatita: OXA: Ca₁₀(PO₄)₆O. Se obtiene de la descomposición parcial de la hidroxiapatita y a temperaturas muy altas. No se comercializa como producto aislado.
- Fosfato tetracálcico: TetCP: Ca₄(PO₄)₂O. Se obtiene a temperaturas muy elevadas. Es biocompatible, pero no es reabsorbible. No existen productos que lo comercialicen.

1.4.3 Cerámicas usadas para reconstrucción ósea

Las cerámicas incluyen a los fosfatos cálcicos, los cuales proporcionan una respuesta biológica en la interfase del material, que resulta en la formación de una fuerte unión entre el tejido óseo y el injerto. Las principales cerámicas son la **hidroxiapatita** y el **fosfato tricálcico**; ambas son altamente biocompatibles, pero difieren en la respuesta biológica que generan en el sitio de implantación. El fosfato

tricálcico poroso desaparece a medida que el hueso nuevo crece, pero la hidroxiapatita es más permanente. La hidroxiapatita implantada en un organismo vivo se recubre de una capa intermedia que la une al hueso vivo; sin embargo, la capa superficial del fosfato tricálcico incrementa la unión con el hueso adyacente, al que se une directamente, lo que estimula la reabsorción por los osteoclastos y la formación de hueso nuevo por los osteoblastos en la zona que se reabsorbe del implante. Se ha utilizado en forma de bloques, gránulos y cemento, y su principal desventaja es su fragilidad. La hidroxiapatita es muy frágil y sufre una reabsorción lenta, por lo que los implantes de este material pueden convertirse en una zona de estrés mecánico. A menudo se combina y modifica con otros materiales (por ejemplo, hueso autógeno) para mejorar su funcionalidad y acelerar la reabsorción; y se comercializa en forma de polvo con estructura porosa o densa (Cornell 1998, Fujita 2003, Fujita 2003(2), Giannoudis 2005, Wang 2003).

Una cerámica con una porosidad mayor y una densidad menor proporciona un área mayor para la vascularización y el crecimiento óseo. La matriz osteoconductora proporciona un ambiente apropiado tanto para las células osteogénicas como para las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs). Las cerámicas recién implantadas carecen de las características mecánicas del hueso, pero tras su incorporación, van adquiriendo propiedades similares a las del hueso esponjoso (Giannoudis 2005).

Existen otros tipos de cerámicas, como son, por ejemplo, los fosfatos cálcicos inyectables y el β -fosfato tricálcico ultraporoso:

Fosfatos cálcicos inyectables (Norian-SRS): es un compuesto que combina las propiedades de los cementos con las de los rellenos para defectos óseos. Contiene α -

fosfato tricálcico, mezclado con carbonato cálcico y fosfato cálcico monohidratado. Se prepara como una pasta que se inyecta en el lugar del defecto; se sustituye completamente por hueso nuevo, y es posteriormente osteointegrado. Es utilizado en cirugía ortopédica con diferentes fines, como reparación de fracturas del extremo distal del radio, fracturas por compresión vertebral y fracturas del cuello del fémur (Giannoudis 2005).

β -fosfato tricálcico ultraporoso: es un relleno para defectos óseos muy poroso, compuesto en un 90% por espacios vacíos interconectados, con un amplio rango del tamaño del poro (1-1000 μm). Fue desarrollado para imitar la estructura trabecular del hueso esponjoso. La porosidad del material permite la acción fagocítica, la reabsorción y la infiltración de células formadoras de hueso, nutrientes y factores de crecimiento para la recuperación ósea. Este material está disponible en forma porosa o sólida, en gránulos o bien en bloques. Cuanto mayor es el tamaño del poro, mayor es la vascularización y el crecimiento óseo; se piensa que el tamaño ideal del poro es de 150-500 μm . Como cualquier otra cerámica, no posee propiedades osteogénicas ni osteoinductoras intrínsecas (Giannoudis 2005).

Las cerámicas bioactivas son cerámicas diseñadas para inducir una actividad biológica específica para reparar órganos dañados. Para la reparación de tejido óseo, la bioactividad se refiere a la capacidad de formar un contacto directo con el hueso vivo tras la implantación en el defecto óseo. El fenómeno de la neoformación ósea en la superficie de las cerámicas bioactivas se llama osteoconductividad (Ohtsuki 2009). Existen varios tipos de biocerámicas, pero las más usadas en clínica en forma de bloques o particuladas son: (Kokubo 2003)

- Bioglass: $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{P}_2\text{O}_5$ (ha sido utilizada para reparar defectos periodontales con éxito).
- Hidroxiapatita sinterizada: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (utilizada para relleno óseo).
- β -fosfato tricálcico sinterizado: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.
- Cerámicas bifásicas de Hidroxiapatita y β -fosfato tricálcico.
- Cerámicas con vidrio: A-W, que contiene oxifluorapatita (uso incluso en forma de vértebras artificiales debido a su gran resistencia), y β -wollastonite.

El principal problema de estos materiales son sus propiedades mecánicas, por lo que se intentan desarrollar materiales bioactivos que mejoren las características de éstos para ser más similares a las del hueso vivo (Tabla 5) (Kokubo 2003).

TABLA 5. Propiedades mecánicas de la hidroxiapatita y el hueso humano (Adaptada de Kokubo 2003)					
		Fuerza compresiva (MPa)	Fuerza de flexión (MPa)	Módulo de Young (GPa)	Resistencia a la fractura (MPa ^m ^{1/2})
Hidroxiapatita		500-1000	115-200	80-110	1.0
Hueso humano	Esponjoso	2-12	-	0.05-0.5	-
	Cortical	100-230	50-150	7-30	2-12

1.4.4 Mecanismo de integración de las cerámicas con el hueso vivo:

Biomíneralización. Intercambios iónicos en las cerámicas

La apatita es la fase mineral de la que mayoritariamente se componen los tejidos duros del cuerpo humano, como el hueso y la dentina (Kim 2004).

Una de las propiedades más interesantes de las apatitas es su capacidad para aceptar iones. Aunque los seres vivos han utilizado esta propiedad para adaptar sus tejidos mineralizados a su fisiología y necesidades funcionales, las apatitas para sustitución están solamente comenzando a desarrollarse para conseguir unas propiedades biológicas similares a las de la hidroxiapatita (Cazalbou 2005).

La fórmula genérica de las apatitas es: $\text{Me}_{10}(\text{XO}_4)_6(\text{Y})_2$. Me son cationes bivalentes, XO_4 son aniones trivalentes e Y son aniones monovalentes. Las reacciones a altas temperaturas permiten que los aniones Y, y en algunos casos, los cationes, sean sustituidos por otros iones (Cazalbou 2005).

Tipos de intercambios iónicos: (Cazalbou 2005)

- Reacciones de intercambio de alta temperatura: fueron las primeras en usarse para cambiar la composición de las apatitas. Ej. Fluorización o cloración de la hidroxiapatita.
- Reacciones de intercambio de iones acuosos a bajas temperaturas involucrando apatitas bien cristalizadas: Estas reacciones se pueden usar para alterar total o parcialmente la composición de las cerámicas. La apatita resultante puede ser menos soluble y más estable.
- Reacciones de intercambio iónico involucrando las apatitas de nanocristales: estas apatitas tienen más facilidad para intercambiar iones que las bien cristalizadas y ello podría tener aplicación para los biomateriales.

Existen varios iones que actúan directamente sobre las células cuando están en solución (Mg, Mn, Zn...) y los nanocristales de apatita pueden ser

utilizados como reservorios para la liberación lenta de estos iones. La liberación puede ser determinada por dos procesos:

- Liberación espontánea por intercambio de iones calcio desde los fluidos del cuerpo. Este mecanismo podría estar implicado en la estimulación local de las células madre mesenquimales u osteoblastos en un material de fosfato cálcico nanocristalino.
- Liberación mediada por células, resultando en la completa disolución de los cristales por los osteoclastos. Este mecanismo podría tener efectos a largo plazo, requiriendo un estadio de remodelación para ser activado, e involucrando osteoblastos y osteoclastos.

La biomineralización de la apatita, que en el tejido duro es un proceso de auto-remodelación guiado por células óseas y proteínas, se ha documentado también en las superficies de algunas cerámicas sintéticas o fosfatos cálcicos cristalinos. Estas cerámicas, llamadas también biocerámicas utilizan la apatita que se mineraliza en su superficie para integrarse espontáneamente en el tejido vivo (Kim 2004).

Las cerámicas tienen una característica común en la interfase con el hueso tras la integración: se encuentra una capa de apatita, mediando la integración con el hueso (Kokubo 2003). La biomineralización de la apatita en las cerámicas bioactivas se considera una consecuencia de la reacción de la superficie de la cerámica con el plasma sanguíneo intersticial, en la cual, la cascada principal parece ser inorgánica. Específicamente, in vitro, un fluido corporal acelular con concentraciones similares al plasma sanguíneo puede reproducir la formación de apatita en las biocerámicas que

tiene lugar in vivo (Kim 2004). El mecanismo de la biomineralización de la apatita se ha estudiado en relación a la hidroxiapatita sinterizada, en vista de su similitud de composición con el hueso y a su difusión en el área biomédica (Kim 2004).

El estudio de Kim et al, del año 2004, investiga las variaciones en la composición de la superficie, estructura y potencial de la hidroxiapatita en el proceso de biomineralización de la apatita en un modelo in vitro con un fluido corporal estimulado. Tras la inmersión en el fluido corporal, la hidroxiapatita adquiriría tres cambios estructurales en su superficie en el proceso de formación de la apatita (Figura 8) (Kim 2004):

- Primer cambio estructural: formación de un fosfato cálcico amorfo rico en calcio en la hidroxiapatita. En vista del cambio en el ratio Ca/P, la formación de este fosfato cálcico amorfo se cree una consecuencia de la interacción de la superficie de la hidroxiapatita con los iones calcio del fluido. La hidroxiapatita atrae a los iones calcio gracias a la carga negativa existente en su superficie, por lo que ésta es una interacción electrostática.
- Segundo cambio estructural: formación de una capa de fosfato cálcico amorfo pobre en calcio en la hidroxiapatita. El fosfato rico en calcio utiliza los iones fosfato del fluido para formar la capa de fosfato pobre en calcio. Esto es debido a la creciente carga positiva del fosfato cálcico rico en calcio, que atrae a los iones fosfato negativos; por tanto, esta también es una interacción electrostática.
- Tercer cambio estructural: formación de apatita. La capa de fosfato cálcico pobre en calcio parece cristalizarse en apatita con una composición y

estructura similar a la del hueso. Esta capa va creciendo incorporando los iones calcio y fósforo del fluido. Esto disminuye su solubilidad y le proporciona estabilidad.

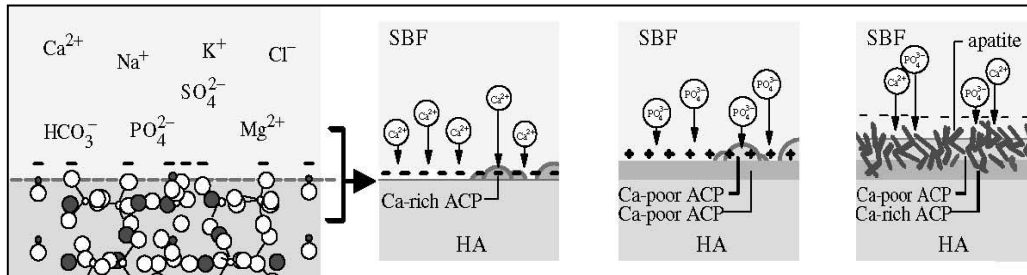


Figura 8. Representación esquemática del origen de la carga negativa de la hidroxiapatita y el proceso de la formación de la capa de apatita similar a hueso (Tomada de Kim 2004).

Los exámenes histológicos in vivo muestran que esta capa de apatita se forma en la superficie de la cerámica en el periodo de implantación temprano, y así la matriz ósea se integra con esta apatita. Una caracterización detallada indica que la capa de apatita consiste en nanocristales de apatita que contiene iones carbonato y tiene una estructura defectuosa y poca cristalización. Estas características son muy similares a las de la fase mineral del hueso, y estimulan a las células formadoras de hueso, como los osteoblastos, que pueden proliferar en la apatita y diferenciarse, para formar una matriz extracelular compuesta de apatita biológica y colágeno. Como resultado, el hueso circundante se pone en contacto directo con la capa de apatita (Kokubo 2003).

Cuando esto ocurre, se forma una unión química entre el mineral óseo y la superficie de apatita y disminuye la energía interfásica entre ellos. Se puede concluir de estos hallazgos que un requerimiento esencial para un material artificial que se una al hueso vivo es la formación de una capa de apatita similar al hueso biológicamente activa en la superficie de este material (Kokubo 2003).

La formación in vivo de una capa de apatita en la superficie de una cerámica puede ser reproducida en un fluido corporal estimulado acelular y aprotéico que se prepare con una concentración de iones similar a la del plasma humano, tal y como se demuestra en el estudio anteriormente comentado. Así, se puede evaluar la capacidad de los materiales de formar esta capa de apatita en su superficie (Kokubo 2003).

Por tanto, esta capa de apatita, en líneas generales se forma de la siguiente manera: La cerámica libera iones calcio, sodio o potasio de su superficie, intercambiando iones con los del fluido en el que se encuentran, formando grupos OH en su superficie; las moléculas de agua reaccionan con estos grupos, formando más grupos OH, que inducen la nucleación de la apatita. Los iones calcio, sodio y potasio liberados aceleran esta nucleación, y una vez que los núcleos se han formado, pueden crecer espontáneamente consumiendo iones calcio y fosfato del fluido circundante, ya que está sobresaturado respecto de la apatita. Así, finalmente se forma una apatita cristalizada similar a la del hueso (Kokubo 2003).

Según Ducheyne (Ducheyne 1999), los cambios que tienen lugar a nivel de la interfase entre la cerámica bioactiva y el tejido vivo serían: (1) disolución de la cerámica, (2) precipitación de la solución en la cerámica, (3) intercambio iónico y reorganización estructural en la interfase cerámica-tejido, (4) interdifusión desde la capa superficial hasta la cerámica, (5) efectos mediados por la disolución sobre la actividad celular, (6) deposición de la fase mineral o de la fase orgánica sin integración en la superficie de la cerámica, (7) deposición con integración de la cerámica, (8) quimiotaxis hacia la superficie de la cerámica, (9) adhesión celular y proliferación, (10)

diferenciación celular y (11) formación de la matriz extracelular. Estos procesos se recogen esquemáticamente en la figura 9.

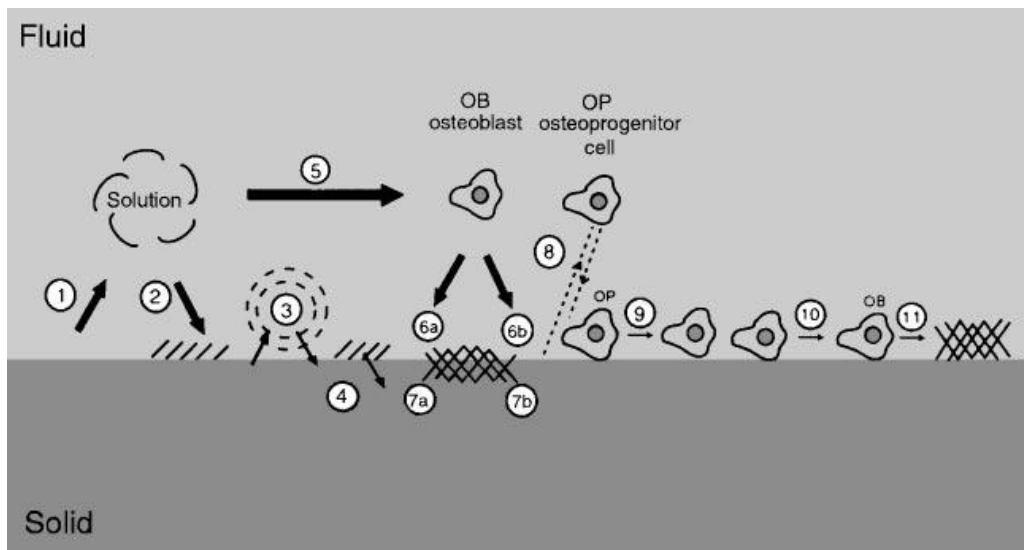


Figura 9. Diagrama esquemático que representa los eventos que tienen lugar en la interfase entre las cerámicas bioactivas y el ambiente biológico que las rodea (Tomada de Ducheyne 1999).

1.4.5 Bioactividad de las cerámicas

En cuanto a la actividad biológica que presentan las cerámicas al ser implantadas en el organismo vivo, se deben tener en cuenta dos diferentes aspectos: la adsorción de proteínas y su relación con la mineralización; y la capacidad osteogénica de las cerámicas.

Adsorción de proteínas y biomineralización:

El comportamiento biológico de estos materiales implantados in vivo podría ser diferente de aquel que se observa en los tests in vitro, debido a la interacción de los compuestos de fosfato cálcico con las macromoléculas (Combes 2002).

La adsorción de proteínas está directamente relacionada con la evaluación de la bioactividad de los materiales de implante a base de fosfato cálcico, y a los procesos

fundamentales de biomineralización. La biomineralización está bajo un control químico, con la nucleación y crecimiento de los cristales, estando reguladas termodinámicamente por la supersaturación y la concentración local de los fluidos biológicos (Combes 2002).

Las proteínas no colagénicas como las fosfoproteínas y la albúmina están involucradas en este complejo proceso, y se acepta que las proteínas de la matriz ósea pueden iniciar la mineralización y regular el crecimiento de los cristales minerales (Combes 2002).

Se han hecho varios intentos de clasificar las proteínas respecto de si son promotoras o inhibidoras de la biomineralización (precipitación del fosfato cálcico), pero parece difícil debido a que sus efectos dependen de la concentración y/o conformación, y a que los efectos no son iguales in vitro e in vivo (Combes 2002).

Osteogénesis:

La cerámica, idealmente, debería poseer la capacidad de activar la formación ósea; lo que requiere la capacidad de causar diferenciación de las células de la médula ósea en osteoblastos (Knabe 2005).

Estos materiales no son osteogénicos; sin embargo algunas biocerámicas de fosfato cálcico han mostrado capacidad para inducir la formación ósea en lugares ectópicos; el mecanismo por el que lo consiguen es desconocido actualmente (Le Nihouannen 2007).

Hay autores que recomiendan el uso conjunto de las cerámicas con pegamentos de fibrina, argumentando que mejora las características de manejo de la cerámica y su capacidad osteogénica. (Le Guéhennec 2004, Le Nihouannen 2007) Los

pegamentos de fibrina son adhesivos biológicos que imitan el paso final de la cascada de la coagulación. Los principales componentes son fibrinógeno, proteínas plasmáticas y el factor XIII de la coagulación por un lado, y trombina, cloruro de calcio y un agente antifibrinolítico como la aprotinina por el otro. Los componentes se extraen del plasma humano, excepto la aprotinina y el cloruro de calcio. Este pegamento forma un coágulo similar al fisiológico, que será degradado por enzimas proteolíticas del sistema fibrinolítico como la plasmina. Se usan para muchas aplicaciones quirúrgicas (Le Guéhenne 2004).

Existen muchos estudios clínicos que estudian la eficacia de los biomateriales combinados con los pegamentos de fibrina. Esta combinación tiene un impacto positivo en la adhesión a las paredes de los defectos óseos y en el manejo del material. El futuro de esta combinación podría estar en la asociación con factores de crecimiento, como ejemplo, las proteínas morfogenéticas óseas, que juegan un importante papel en la embriogénesis, y además actúan en la diferenciación de las células mesenquimales a osteoblastos, siendo importantes en la curación y remodelación ósea. Otra combinación posible sería con células de la médula ósea. La combinación de células, fibrina y biocerámicas podría ser un sustituto óseo ideal para reconstrucción ósea (Le Guéhenne 2004).

Por ejemplo, el estudio de Le Nihouannen, del año 2007 (Le Nihouannen 2007), investiga las propiedades mecánicas y osteogénicas de los gránulos de cerámica bifásica de fosfato cálcico (hidroxiapatita 60: β -fosfato tricálcico 40), macro y microporosos asociados a pegamentos de fibrina.

En este trabajo se observó, que tanto en sitios intramusculares en ovejas, como en defectos óseos críticos en conejos, la cerámica producía formación de hueso nuevo, con fibras de colágeno ordenadas, osteocitos y sistemas de osteonas. Se encontró tejido óseo mineralizado y maduro en contacto directo y unido a los gránulos de la cerámica, tanto dentro como entre los mismos. La vía de formación de este hueso parece ser intramembranosa, y su estructura es similar a la del hueso esponjoso. Además, al aumentar el tiempo de implantación, aumentaba la cantidad de tejido mineralizado. Esto parece estar a favor de la existencia propiedades osteoconductoras y osteoinductoras para este material.

Se propone la teoría de que el material produce una reacción inflamatoria, que atrae células mesenquimales indiferenciadas, que proliferan y se diferencian para formar hueso nuevo. Además, el coágulo formado por el pegamento de fibrina (similar al producido en fracturas óseas), es degradado en los primeros días, lo que atrae a cantidad de células osteoprogenitoras, entre otras. Seguidamente se produciría una neovascularización de la zona, con producción de abundante matriz extracelular por los osteoblastos, que será mineralizada posteriormente.

Por otra parte, en cuanto al estudio de las propiedades osteogénicas de las cerámicas aisladas, el estudio de Knabe et al, (Knabe 2005) compara tres nuevas cerámicas con el α -fosfato tricálcico en cuanto a la expresión de genes relacionados con el hueso y proteínas óseas in vitro en células derivadas de hueso humano, hallando que todas estimulan a las células cultivadas, expresándose en mayor o menor medida los marcadores osteoblásticos que utilizan, y que son expuestos a continuación:

Los osteoblastos en diferenciación sintetizan y secretan colágeno de tipo I, fosfatasa alcalina (marcador de preosteoblastos), y otras proteínas no colagénicas de la matriz ósea como la osteonectina, osteopontina y osteocalcina. Estas proteínas de la matriz ósea son particularmente útiles como marcadores osteogénicos. El colágeno tipo I se expresa durante el periodo inicial de proliferación osteoblástica, la fosfatasa alcalina se expresa en el periodo post-proliferativo, y la osteonectina, osteopontina y osteocalcina se expresan durante la mineralización ósea. Por todo ello, los mRNA correspondientes a estas proteínas, son marcadores muy útiles a la hora de determinar la capacidad osteogénica que poseen las cerámicas (Knabe 2005).

A continuación, se detallan dos estudios realizados con β -fosfato tricálcico que intentan localizar células osteoblásticas y osteoclásticas en el tejido resultante tras la realización de procedimientos de injerto óseo: (Takahashi 2005, Zerbo 2005)

El estudio de Takahashi et al, del año 2005 (Takahashi 2005) evalúa las características de las esponjas de gelatina combinadas con β -fosfato tricálcico como matriz para las células madre mesenquimales desde el punto de vista de sus propiedades mecánicas, y la mejora de la osteoinducción por la incorporación del β -fosfato tricálcico.

La gelatina es colágeno desnaturalizado, y se comercializa como un polímero biodegradable. En cuanto a la hidroxiapatita y el β -fosfato tricálcico, ambos son difíciles de manejar, y la forma no se puede cambiar intraoperatoriamente. Estas desventajas se pueden paliar combinando las cerámicas con gelatina.

En los resultados del trabajo, se encontró que las células adheridas a todos los tipos de esponjas de gelatina (que contenían distinta cantidad de β -fosfato tricálcico y

distinto tamaño de partícula) lo hicieron en un número similar, y estaban uniformemente distribuidas por la esponja. La morfología de las células sí dependía del tipo de esponja, siendo más planas cuanto mayor era la cantidad de β -fosfato tricálcico contenían las esponjas. La densidad celular aumentaba en muestras con poco β -fosfato tricálcico, y se hacía significativa para esponjas que contenían entre un 75-90% de β -fosfato tricálcico.

Se observó formación ósea en la parte periférica de la esponja, en todos los casos. Las células se distribuían uniformemente en el interior de las esponjas, pero no se vio nuevo hueso en el interior.

Este estudio demuestra que la proliferación y diferenciación de células mesenquimales en las esponjas de gelatina con β -fosfato tricálcico estaba muy influenciada por la cantidad de β -fosfato tricálcico y por el método de cultivo utilizado.

Se estudió asimismo la actividad de ALP (fosfatasa alcalina) y el contenido de osteocalcina de las células mesenquimales como marcadores de diferenciación osteogénica. Estos marcadores arrojaron unos resultados que eran máximos para la esponja que contenía el 50% de β -fosfato tricálcico.

Los resultados de este trabajo sugieren que el β -fosfato tricálcico funciona por sí mismo aumentando la diferenciación osteoblástica de las células madre mesenquimales. Además, se sugiere que la aplicación de β -fosfato tricálcico combinado con gelatina solucionaría uno de los problemas de esta cerámica, que es su difícil manejo clínico; y además permitiría que la forma del material se adaptase a la forma del defecto óseo a rellenar. Sin embargo, este es un estudio in vitro, y se

necesitarían más estudios, tanto in vitro como in vivo para comprobar si ambos materiales, al combinarse mejoran sus propiedades osteogénicas y de manejo o no.

El estudio de Zerbo et al, del año 2005, (Zerbo 2005) intenta localizar células osteoblásticas y osteoclásticas en partículas de β -fosfato tricálcico utilizadas en procedimientos de elevación de seno maxilar.

En un estudio previo de estos mismos autores, se vio que tras seis meses de curación, se formaba menos hueso en los senos aumentados con β -fosfato tricálcico que en los aumentados con hueso autógeno del propio paciente. El hueso había reemplazado las partículas de β -fosfato tricálcico en las áreas inmediatamente apicales al hueso residual. Sin embargo, lejos del hueso original, se observaban áreas de sustituto óseo sin matriz ósea, pero conteniendo un tejido conectivo blando en crecimiento con muchas células con capacidad incierta. Este estudio trata de establecer la capacidad osteogénica de esas células encontradas en el tejido conectivo blando.

También se estudió el mecanismo por el cual se degrada el β -fosfato tricálcico previo a su sustitución por hueso. Se piensa que esto tiene lugar por dos vías: reabsorción mediada por osteoclastos o por disolución en el fluido intersticial. Para detectar si había actividad osteoclástica, se usó un marcador citoplasmático presente en los osteoclastos: fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP).

Para analizar las células con potencial osteogénico, se usaron anticuerpos para Runx2 o el factor de unión core alfa 1 (Cbfa-1). Runx2/Cbfa-1 es un factor de transcripción requerido para la activación de los osteoblastos, y es crucial para la regulación de genes responsables de la producción de proteínas específicas de la

matriz extracelular ósea: colágeno tipo I, osteopontina (OPN) y sialoproteína ósea (BSP). Sin Runx2/Cbfa-1, las células osteogénicas no pueden diferenciarse a osteoblastos, el colágeno tipo I, OPN y BSP no se sintetizan, y no se forma hueso.

Para identificar células de la línea osteoblástica (osteoblastos, osteocitos y preosteoblastos) se usaron anticuerpos contra osteopontina y sialoproteína ósea, que están presentes en la formación precoz de hueso en estas células.

La hipótesis era que las células del tejido conectivo blando presente a los seis meses rodeando al fosfato tricálcico tras la elevación de seno son células osteoprogenitoras u osteoblastos diferenciándose; y que el fosfato tricálcico se degrada por la actividad osteoclástica.

Tras la tinción para TRAP, se identificaban claramente osteoclastos en el hueso residual maxilar, con un citoplasma rojo localizados a lo largo de los márgenes de hueso, y adyacentes a las características lagunas de Howship. También se encontraron células TRAP-positivas en la zona aumentada, predominantemente en la periferia de las partículas de fosfato tricálcico y en la masa de tejido conectivo blando. Estas células eran pequeñas y con pocos núcleos, no se observaron células gigantes. El número de células TRAP-positivas que infiltraban y estaban en contacto con las partículas de fosfato tricálcico decrecía al aumentar la distancia desde el hueso residual. El hueso formado alrededor de las partículas también disminuía al alejarse del hueso residual (Figura 10).

Las células positivas para la tinción con Runx2/Cbfa-1 se encontraron tanto en el tejido óseo como en el material de aumento óseo. Fueron inmunopositivas células similares a líneas osteoblásticas y osteocitos jóvenes con abundante citoplasma. En

contraste, no se tiñeron osteocitos maduros con poco citoplasma. Muchas células del tejido conectivo blando fueron positivas para Runx2/Cbfa-1, menos según se alejan del hueso residual.

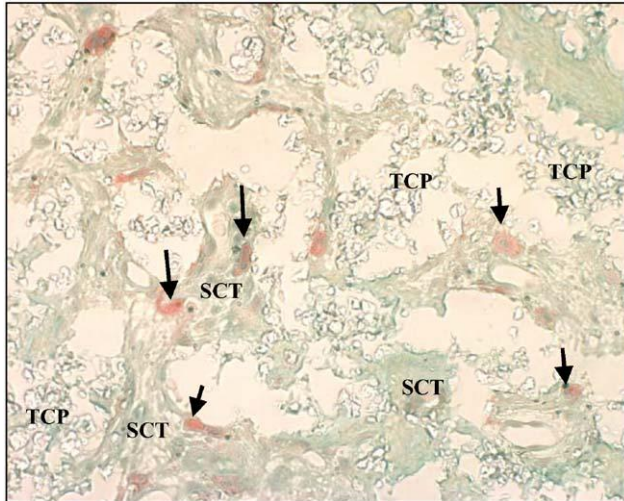


Figura 10. Tinción para TRAP
(Tomada de Zerbo 2005)

El número de células que infiltraban el material decrecía al alejarse del hueso residual, pero el porcentaje de células teñidas siempre era muy alto (hasta el 95% de las células que rodeaban las partículas de fosfato tricálcico). Esto significa que las células del tejido conectivo blando halladas alrededor y dentro del material son osteogénicas y tienen potencial para convertirse en osteoblastos (Figura 11). No se encontraron zonas de cartílago ni células formadoras de cartílago en ninguna biopsia.

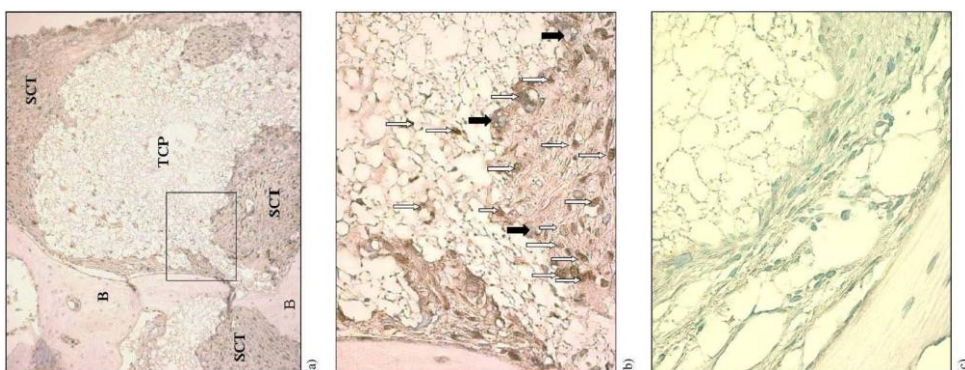


Figura 11.
Tinción para
Runx2/Cbfa-1.
(Tomada de
Zerbo 2005)

La inmunotinción con osteopontina y sialoproteína ósea era mucho más limitada. Era positiva en osteoblastos en diferenciación, osteoblastos activos y

osteocitos jóvenes, y estas células se encontraban en la cercanía del tejido óseo remanente. Se encontraron pocas células positivas infiltrando las partículas de fosfato tricálcico. Estos resultados sugieren que estas células estaban siguiendo el camino de la diferenciación osteoblástica (Figura 12).

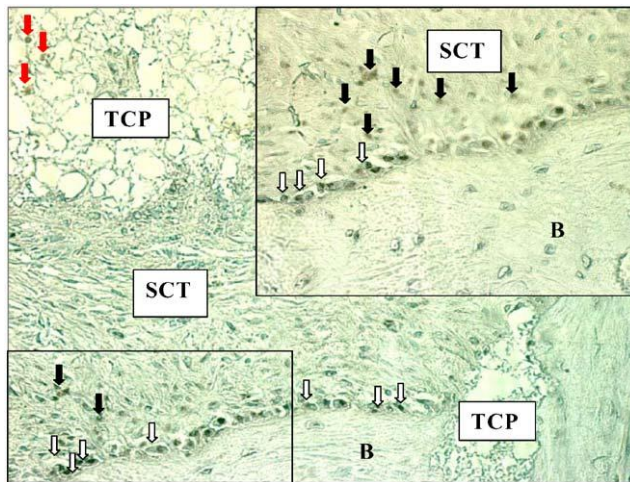


Figura 12. Tinción para osteopontina. (Tomada de Zerbo 2005)

Estos y otros datos muestran que las partículas de β -fosfato tricálcico son osteoconductoras, y cuando se implantan en el seno maxilar, empieza una migración de células osteogénicas desde el hueso residual hacia las partículas. Esto podría estar estimulado por los componentes del coágulo sanguíneo en formación. Los coágulos sanguíneos se componen en gran parte de fibrina, pero también de fibronectina y glicoproteínas adhesivas que conectan los receptores de integrinas de las membranas celulares con las moléculas de la matriz extracelular vía -Asp-Gly-Arg-(RGD), y guían la migración celular.

El estímulo específico para la diferenciación osteoblástica no se conoce, y posiblemente es multifactorial. La degradación del propio β -fosfato tricálcico podría contribuir, ya que hay autores que han señalado que un aumento local en los iones calcio y fosfato estimulan la diferenciación osteoblástica. El β -fosfato tricálcico usado es muy poroso (45-50%), con un tamaño de poro de 5-20 μ m, que claramente permite

la infiltración celular, sin embargo, el número de células infiltradas disminuye al aumentar la distancia desde el hueso residual, que actuaría como una superficie osteogénica. En primer lugar se forma hueso entre las partículas, y en segundo lugar en las partículas.

Respecto a la biodegradación del β -fosfato tricálcico, se comprobó que existía gran cantidad de células diferenciándose hacia osteoblastos. Es posible que la actividad metabólica de estas células produzca productos de degradación ácidos que causen la disolución química del β -fosfato tricálcico. Ello, unido a la pobre vascularización incipiente, causaría un descenso del pH, que promovería la disolución del β -fosfato tricálcico. Esto no excluye la participación de los osteoclastos, pero sugiere que podría ser más limitada.

1.5 β -FOSFATO TRICÁLCICO

El primer uso in vivo de β -fosfato tricálcico fue llevado a cabo por Albee y Morrison en 1920 (Albee 1920). En los años 70 se empezaron a sintetizar, caracterizar y aplicar fosfatos cálcicos en clínica; especialmente la hidroxiapatita. Eran preparados por sinterización como gránulos o como bloques, porosos o densos. Desde entonces, el interés por ellos ha ido en aumento y hoy día, son materiales viables para la sustitución de tejidos. (Bohner 2000, Kokubo 2003, LeGeros 1988, LeGeros 2002, Wang 2003)

El β -fosfato tricálcico se prepara sinterizando apatita calcio-deficiente precipitada con ratio molar de Ca a P de 1.5, o mediante reacciones en estado sólido a altas temperaturas (LeGeros 2002). Además de la importancia que tiene su porosidad y la interconexión entre los poros en la respuesta celular, la respuesta inflamatoria, la formación de hueso, el crecimiento de vasos sanguíneos en el interior (para ello el tamaño del poro debe superar las 400 μ) y la reabsorción de la cerámica (Bashoor-Zadeh 2011, Feng 2011, Ghanaati 2010, von Doernberg 2006, Walsh 2008), se ha mostrado que la microestructura de las partículas del β -fosfato tricálcico afecta también tanto a la respuesta inflamatoria inicial, como a la reabsorción del biomaterial y al metabolismo del hueso neoformado (Ghanaati 2010, Okuda 2007). Tadic y Epple (Tadic 2004) analizaron químicamente cinco tipos de β -fosfato tricálcico comercializados para la sustitución ósea y los compararon con el hueso humano, encontrando en la mayoría de ellos impurezas en la composición (trazas de α -fosfato tricálcico, pirofosfato cálcico o hidroxiapatita); y en todos ellos una morfología de gránulos con gran porosidad, una alta cristalinidad, una estabilidad mecánica pequeña y una biodegradabilidad moderada.

De modo aislado, las cerámicas sintéticas no poseen propiedades osteogénicas ni osteoinductoras, y muestran un soporte estructural mínimo. Cuando se colocan junto a hueso sano, se deposita una capa de osteoide directamente en la superficie de la cerámica, sin una interfase de tejido blando. Así, este osteoide se mineraliza y el hueso resultante es remodelado (Giannoudis 2005). El estudio in vitro e in vivo de Franco y cols (Franco 2006) mostró que la superficie del β -fosfato tricálcico es colonizada en primer lugar por proteínas y células, y posteriormente por tejido fibrovascular con una intensa actividad angiogénica y ribetes de células multinucleadas que proceden a la remoción del material. El progreso de esta colonización hacia el interior del material depende de su porosidad. En una segunda fase, la matriz proteica extracelular que embebe fragmentos del material se mineraliza, quedando englobado β -fosfato tricálcico en su interior. El material va siendo sustituido progresivamente por matriz extracelular típica. A nivel clínico, Plenck Jr y cols (Plenck Jr 2007) mostraron la progresiva reabsorción del β -fosfato tricálcico en elevaciones de seno en humanos y su sustitución por hueso nuevo, aunque señalaron la lentitud con la que esto tiene lugar. Kondo y cols (Kondo 2005) estudiaron el comportamiento del β -fosfato tricálcico al implantarlo en el fémur de ratas mediante la tinción para TRAP, inmunohistoquímica de la proteína EDI e hibridación in situ de procolágeno, osteopontina y osteocalcina; y mostraron que la osteoconducción se manifiesta de manera muy temprana (4 días), seguida de una reabsorción del material y reemplazo del mismo por hueso nuevo, de manera que a los 56 días, las áreas del material eran significativamente más pequeñas que en los días 4 y 7, sugiriendo una reabsorción cronológica. Habiendo sido estudiado el comportamiento inicial y a corto plazo, el estudio de Ye y cols (Ye 2007) confirmó la seguridad y la estabilidad a largo plazo del hueso neoformado y de este tipo de

cerámicas implantadas en cerdos en un estudio de cuatro años y medio de duración. También se demostró la estabilidad a largo plazo (5 años) en elevaciones de seno en humanos en el estudio de Velich y cols (Velich 2004).

Un estudio muy reciente de Zhao y cols (Zhao 2011) ha estudiado la expresión genética y los mecanismos moleculares tempranos que se producen tras la implantación de β -fosfato tricálcico en defectos artificiales creados en la mandíbula de perros beagle, utilizando para ello análisis histológico, análisis de microarrays, IPA (Ingenuity Pathways Analysis, variante del análisis de redes genómicas *in silico*), PCR a tiempo real y PCR con transcriptasa inversa; todo ello a los 4, 7 y 14 días tras la implantación y comparándolo con un grupo control en el que no se utilizó material de relleno. El análisis histológico revela la presencia de fibroblastos, células inflamatorias y linfocitos en el día 4, hueso nuevo y tejido conectivo fibroso en el día 7 y en el día 14 un relleno completo del defecto por hueso regenerado en el grupo en que se utilizó β -fosfato tricálcico; mientras que en el otro grupo, en el día 4 se encontró tejido conectivo inflamatorio, en el día 7 hueso nuevo en el área periférica de la lesión, y pequeñas área de hueso nuevo en el día 14. El análisis de la expresión de genes reveló que en el grupo de β -fosfato tricálcico, 3409 genes en el día 4, 3956 en el día 7 y 6899 en el día 14 eran expresados de manera diferente a como lo hacían en el grupo control. Los perfiles de expresión genética eran similares en los días 4 y 7, pero muy diferentes en el día 14, reflejando la presencia de osteoblastos involucrados en la formación de hueso y osteoclastos involucrados en la reabsorción del β -fosfato tricálcico. En general, en el día 4 se observa una activación de genes que corresponden con una respuesta de fase aguda y reparación tisular primaria tras la cirugía, comunicación celular y regulación de la proliferación celular, y en los días 7 y 14 se

pasa a una actividad de diferenciación celular, desarrollo esquelético, formación de biomineral, osificación, regulación de la mineralización ósea y remodelado óseo. En cuanto a las redes de señalización genética, la más significativa que se encontró en el análisis fue la del rol de los osteoblastos y osteoclastos, con activación de los caminos de señalización de las BMP (diferenciación osteoblástica) y Wnt/ β -catenina (proliferación osteoblástica, formación de matriz ósea, estabilización y mineralización).

Por tanto, entre los sustitutos sintéticos de tipo cerámico, el β -fosfato tricálcico es un material biocompatible, reabsorbible y osteoconductor que ha sido utilizado ampliamente para la reparación de defectos óseos, ya que permite por sus características fisicoquímicas la infiltración de células osteogénicas y la conservación del espacio rellenado con éxito en diversas áreas de la biología, veterinaria, medicina y odontología (Aguirre-Zorzano 2007, Deppe 2007, Döri 2008, Ellingsen 2006, Foitzik 2003, Franch 2006, Gaasbeek 2005, Gan 2008, Horch 2006, Kasten 2008, Linovitz 2002, Liu 2007, Momma 2008, Ogose 2002, Ogose 2005, Ogose 2006, Ono 2011, Wang 2003, Yamauchi 2010, Zafiropoulos 2007).

El β -fosfato tricálcico ha demostrado su biocompatibilidad en varios estudios (Allabouch 1993, Aybar 2004) y además se ha comprobado que es un material en el que los osteoblastos, las células multipotenciales y las células madre derivadas de la médula ósea son capaces de proliferar, y que proporciona una matriz adecuada para el crecimiento óseo (Aybar 2004, Liu 2007, Payer 2010, Yefang 2007). Se ha sugerido también que podría utilizarse como vehículo para factores de crecimiento que estimulen la formación ósea, lo cual aumentaría la respuesta osteogénica y mejoraría los resultados clínicos (Aybar 2004, Byun 2008). A este respecto, en un ensayo clínico

multicéntrico randomizado reciente (Stavropoulos 2011) se ha mostrado que la combinación del factor de crecimiento y diferenciación recombinante humano 5 con β -fosfato tricálcico iguala los resultados que ofrece la combinación de hueso autógeno y β -fosfato tricálcico en elevaciones de seno; pudiendo eliminarse por tanto el uso de hueso autógeno y disminuyendo las complicaciones asociadas al mismo.

Además, estudios *in vitro* sobre ingeniería tisular han mostrado que la combinación de β -fosfato tricálcico poroso con células osteoprogenitoras derivadas de la médula ósea seguida de un cultivo en un medio osteogénico, da lugar a un material compuesto con una buena actividad osteogénica, mejores propiedades mecánicas y menor biodegradabilidad (Dong 2002). En este sentido Gan y cols (Gan 2008) utilizaron una combinación de β -fosfato tricálcico y células madre derivadas de la médula ósea para la fusión espinal posterior en 41 pacientes con éxito clínico en el 95% de los casos; y Shayesteh y cols (Shayesteh 2008) utilizaron una combinación de β -fosfato tricálcico/hidroxiapatita con células madre derivadas de la médula ósea para la elevación de seno maxilar en 6 pacientes con éxito clínico de los 30 implantes colocados en el 93% de los casos. Un reciente estudio de Xia y cols (Xia 2011) utilizó el β -fosfato tricálcico granulado como vehículo para células de la médula ósea modificadas genéticamente para BMP-2 y Nell-1; encontrando una mejora en la formación ósea a las 2 y 8 semanas de implantación en elevaciones sinusales en conejos debido al efecto sinérgico de estos dos genes en la diferenciación celular osteogénica de las células utilizadas. Por el contrario, Maréchal y cols (Maréchal 2008) no encontraron mejores resultados al añadir células del periostio a una matriz de β -fosfato tricálcico para la reparación de defectos óseos en el cráneo de conejos, quizá como ellos mismos señalaron, porque las células utilizadas no fueron las adecuadas a

este propósito.

En la línea de la ingeniería tisular, se considera que las cerámicas, como el β -fosfato tricálcico, debido a su gran afinidad por las proteínas, pueden ser utilizadas como vehículos para medicamentos y sustancias, siempre que se introduzcan en ellas macroporosidades en combinación con células y factores de crecimiento osteoinductores (Habraken 2007, Jiang 2009, LeGeros 2002, Zhao 2010). Jung y cols (Jung 2008) demostraron una mayor formación ósea utilizando β -fosfato tricálcico e hidroxiapatita como vehículo para la proteína BMP-2 en conejos; Jung y cols (Jung 2006) utilizaron el β -fosfato tricálcico como vehículo para la proteína recombinante humana BMP-4 con éxito en ratas, aunque no encontraron una influencia del tamaño de partícula del β -fosfato tricálcico en la formación ósea; y Koch y cols (Koch 2010) y Lee y cols (Lee 2010) recientemente utilizaron el factor de crecimiento y diferenciación 5 recombinante humano con un vehículo de β -fosfato tricálcico para elevaciones sinusales en el primer caso, y regeneración periodontal en el segundo, encontrando buenos resultados clínicos e histológicos, así como buenos resultados relativos a la seguridad.

El β -fosfato tricálcico ha sido utilizado en estudios sobre animales para probar su capacidad como biomaterial en la regeneración ósea (Tabla 6) (Alam 2007, Artzi 2004, Boix 2006, Comuzzi 2002, Fiorellini 2007, Jensen 2005, Jensen 2006, Masago 2007, Nakajima 2007, Suba 2004).

Comuzzi et al valoraron la aplicación clínica y el comportamiento biológico después de doce semanas de un cemento de fosfato cálcico como relleno óseo para los espacios resultantes (entre 1-2 mm) alrededor de los implantes insertados en el

hueso trabecular de los fémures de cabras. La inyección del cemento de fosfato cálcico resultó en un casi completo relleno de los espacios con hueso neoformado (Comuzzi 2002).

Artzi et al demostraron la curación ósea de defectos mandibulares experimentales en perros utilizando β -fosfato tricálcico para su relleno, en un estudio de seguimiento durante 24 meses en el que se realizaron análisis histomorfométricos de los cortes histológicos a los 3, 6, 12 y 24 meses (Artzi 2004).

Otro trabajo realizado en perros demuestra la regeneración ósea en alveolos postextracción utilizando β -fosfato tricálcico solo o combinado con plasma rico en plaquetas para su relleno, mediante análisis histomorfométricos a las 6, 12 y 24 semanas tras la cirugía (Suba 2004).

Del mismo modo, en un estudio utilizando β -fosfato tricálcico para el relleno de defectos mandibulares experimentales en cerdos, se obtuvieron buenos resultados histológicos e histomorfométricos en cuanto a la regeneración del defecto y la integración y reabsorción del material a las ocho semanas de curación (Jensen 2006). Sin embargo, estos mismos autores no lograron mejorar los resultados clínicos añadiendo plasma rico en plaquetas al biomaterial (Jensen 2005), igual que posteriormente Tamura y cols (Tamura 2007), quienes tampoco encontraron una mejoría de los resultados al añadir plasma rico en plaquetas al β -fosfato tricálcico.

También se ha demostrado la eficacia para preservar la integridad del reborde alveolar postextracción con un sustituto óseo realizado mediante la combinación de gránulos de fosfato cálcico y un polímero en solución en perros beagle, mediante un estudio histomorfométrico a los tres meses de cicatrización (Boix 2006).

TABLA 6. Estudios realizados sobre animales con fosfato tricálcico				
AUTOR Y AÑO	ESPECIE	TÉCNICA	TIEMPO Y VARIABLES ESTUDIADAS	CONCLUSIONES PRINCIPALES
Comuzzi 2002	Cabras	Relleno defectos alrededor de implantes	12 semanas. Histología	Relleno casi completo de los defectos
Artzi 2004	Perros	Defectos mandibulares	3, 6, 12 y 24 meses. Histomorfometría	Curación ósea demostrada
Suba 2004	Perros	Preservación alveolar	6, 12 y 24 semanas. Histomorfometría	Regeneración ósea completa
Jensen 2006	Cerdos	Defectos mandibulares	8 semanas. Histomorfometría	Regeneración ósea y reabsorción material adecuadas
Boix 2006	Perros	Preservación alveolar	3 meses. Histomorfometría	Preservación integridad reborde alveolar
Nakajima 2007	Perros	Defectos mandibulares	8 meses. Histología e histomorfometría	Relleno de los defectos por hueso nuevo, permanencia del material.
Masago 2007	Conejos	Defectos maxilares	1, 2 y 5 meses. Histología	El β -TCP se reabsorbe por completo en 5 meses, dando lugar a hueso nuevo viable
Alam 2007	Conejos	Defectos mandibulares	2, 4, 8, 12 y 24 semanas. Histología, histomorfometría e inmunohistoquímica	El β -TCP induce formación de hueso, reabsorción muy lenta.
Fiorellini 2007	Perros	Defectos mandibulares	5 meses. Histología e Histomorfometría.	65% de porcentaje de contacto hueso-implante. Éxito de los implantes
Frota 2011	Ratas	Defectos en calota craneal	7, 15 y 30 días. Histología	No diferencias entre lado control (sin relleno) y lado β -TCP

Nakajima y Cols (Nakajima 2007), en su estudio sobre perros beagle demostraron un buen relleno óseo de los defectos mandibulares creados quirúrgicamente utilizando varios materiales (β -TCP, hueso autógeno, aloinjerto, hueso bovino y colágeno) y cubriendo los defectos con membranas de politetrafluoroetileno expandido.

El trabajo realizado por Masago y cols (Masago 2007) reveló que cinco meses tras la colocación de β -fosfato tricálcico en defectos practicados en maxilares de conejos, el material fue totalmente reabsorbido y sustituido por hueso nuevo viable en prácticamente todas las áreas tratadas (Figura 13).

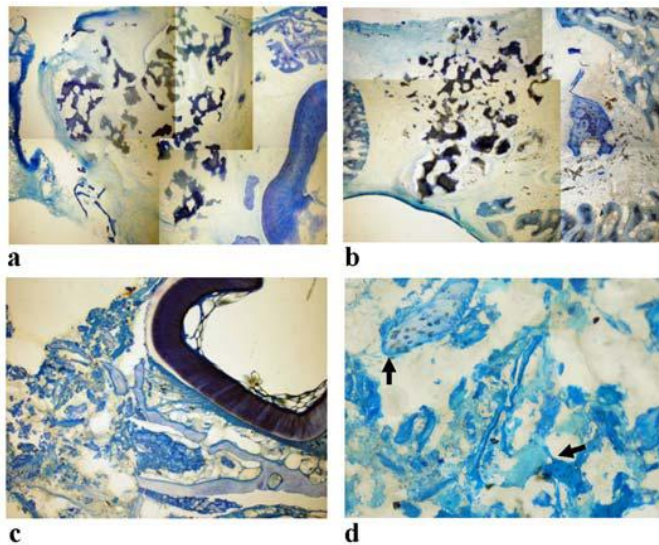


Figura 13. Imágenes microscópicas de defectos tratados con β -TCP (tinción con azul de toluidina). **a;** 1 mes (40x) Se observan gránulos del material y no hay hueso nuevo. **b;** 2 meses (40x) Hay reabsorción del material y áreas remplazadas por hueso nuevo. **c y d;** 5 meses (c:40x y d: 100x) los gránulos de β -TCP son reabsorbidos y casi toda el área se ha sustituido por hueso nuevo (flechas). (Tomada de Masago 2007)

Fiorellini y cols (Fiorellini 2007), realizaron un estudio sobre perros beagle en el que crearon defectos mandibulares quirúrgicamente para después rellenarlos con hueso autógeno, aloinjerto, hueso bovino, esponjas de colágeno o β -fosfato tricálcico; cubrirlos con membranas y dos meses después colocar implantes dentales. Hallaron que el porcentaje de contacto entre hueso e injerto era entre el 50 y el 65%, siendo mayor para el β -fosfato tricálcico, aunque sin diferencias entre los grupos; y además los implantes estaban osteointegrados y sin signos de periimplantitis.

Sin embargo, el trabajo realizado por Alam y cols (Alam 2007) muestra que, aunque el β -fosfato tricálcico producía neoformación ósea en defectos mandibulares en conejos, ésta era más rápida e intensa utilizando hueso autógeno; además el

material permanecía sin ser completamente reabsorbido a los seis meses. El estudio de Frota y cols (Frota 2011) tampoco encuentra diferencias significativas en la histología a 7, 15 y 30 días al rellenar defectos en la calota de ratas con β -fosfato tricálcico y compararlos con defectos en la lado contralateral que no fueron rellenados.

El β -fosfato tricálcico también se ha utilizado a nivel clínico en cirugía e implantología oral (Tabla 7) (Horch 2006, Ormianer 2006, Piatelli 1996, Suba 2006, Szabó 2005, Tetsch 2010, Velasco-Ortega 2008, Zijderveld 2005).

Piatelli et al utilizaron con éxito un compuesto de hidroxiapatita (50%) y β -fosfato tricálcico (50%) para rellenar los defectos óseos producidos por la enucleación de quistes maxilares, que a los 6 meses fueron tratados con la inserción de implantes dentales en el nuevo tejido regenerado (Piatelli 1996).

Horch y cols (Horch 2006) trataron distintos tipos de defectos en 152 pacientes con β -fosfato tricálcico aislado o mezclado con hueso autógeno. A los 12 meses, la histología mostraba una completa formación ósea y la radiología un completo reemplazo del material por hueso nuevo, indicando que es un material adecuado para utilizar en la región alveolar.

Otro estudio valoró los resultados de la carga inmediata de 1065 implantes insertados en 338 pacientes edéntulos parciales donde se utilizó el β -fosfato tricálcico como biomaterial en rebordes alveolares atróficos, alveolos postextracción y elevación sinusal. Después de una media de 19,2 meses, la supervivencia de los implantes fue del 97,6% (Ormianer 2006).

Ridgway y cols (Ridgway 2008) realizaron un estudio que sugiere que se puede lograr regeneración periodontal en defectos periodontales intraóseos en humanos

utilizando β -fosfato tricálcico combinado con factor de crecimiento derivado de plaquetas recombinante humano tras tratamiento periodontal, colocación del injerto y seis meses de curación.

TABLA 7. Estudios realizados sobre humanos con fosfato tricálcico.			
AUTOR Y AÑO	TÉCNICA	TIEMPO Y VARIABLES ESTUDIADAS	CONCLUSIONES PRINCIPALES
Piatelli 1996	Relleno de defectos por quistectomías	6 meses. Histología	Osteoconducción y biocompatibilidad. Buena regeneración
Szabó 2005	Elevación de seno	6 meses Radiología, histología e histomorfometría	Regeneración ósea y altura adecuadas (igual que hueso autógeno)
Zijderveld 2005	Elevación de seno	12 meses. Resultados clínicos	100% éxito implantes usando βTCP vs. autógeno
Horch 2006	Quistectomías, fisuras alveolares, defectos periodontales y elevación de seno	4, 12 y 52 semanas. Resultados clínicos, radiología, histología y ultrasonografía	El βTCP es un buen material para el relleno de defectos óseos en la región alveolar
Ormianer 2006	Carga inmediata de 1065 implantes en zonas aumentadas	19,2 meses. Resultados clínicos	97,6% supervivencia de los implantes
Suba 2006	Elevación de seno	6 meses Histología e histomorfometría	Regeneración ósea y altura adecuadas (igual que hueso autógeno)
Ridgway 2008	Relleno defectos periodontales	6 meses. Histología	Regeneración periodontal en 13 de 16 dientes tratados
Velasco Ortega 2008	Elevación de seno	8 meses. Resultados clínicos e Histología	Regeneración ósea adecuada y éxito clínico de los implantes
Tetsch 2010	Elevación de seno	176 meses. Resultados clínicos y radiológicos	97,1% de éxito, sin diferencias entre hueso bovino y βTCP

Se han realizado varios estudios que han demostrado las ventajas de utilizar el β -fosfato tricálcico como biomaterial en aquellos pacientes en los que era necesaria la elevación del seno maxilar para la inserción posterior de implantes dentales (Suba

2006, Szabó 2005, Tetsch 2010, Velasco Ortega 2008, Zijdeveld 2005). Aunque se dice que el hueso del propio paciente es el material ideal en la técnica de elevación sinusal, el estudio de Zijdeveld et al no muestra diferencias en el porcentaje de éxito de los implantes insertados a los 6 meses de cicatrización en elevaciones sinusales uni y bilaterales comparando el hueso autólogo y el β -fosfato tricálcico (100% con ambos tipos de injertos) después de 12 meses de seguimiento (Zijdeveld 2005). Además se ha demostrado mediante histología e histomorfometría que el hueso autólogo y el β -fosfato tricálcico no presentan diferencias significativas en la regeneración ósea del suelo maxilar y en su adecuación en altura para la inserción posterior de los implantes dentales (Suba 2006, Szabó 2005). Velasco Ortega y cols (Velasco Ortega 2008) rehabilitaron el maxilar superior de una paciente mediante elevación de seno bilateral con β -fosfato tricálcico y colocación de 10 implantes a los ocho meses. Los resultados clínicos a los 12 meses fueron buenos y la histología mostraba una adecuada neoformación ósea con restos del biomaterial aún presentes. Tetsch y cols, en un estudio retrospectivo valoraron los resultados clínicos y radiológicos de elevaciones de seno e inserción posterior de 2190 implantes en 983 pacientes, utilizando hueso bovino o β -fosfato tricálcico. No encontraron diferencias entre uno y otro material, y obtuvieron un 97,1% de éxito clínico de los implantes (Tetsch 2010).

El objetivo del presente estudio es valorar la capacidad del β -fosfato tricálcico KeraOs® para facilitar la formación de hueso en el alveolo tras la exodoncia, previniendo la reabsorción alveolar post-extracción, como paso previo a la colocación de implantes dentales.

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

2.1 HIPÓTESIS DE TRABAJO

La hipótesis de trabajo para este estudio es la siguiente: La aplicación de β -fosfato tricálcico particulado como material de relleno en el alveolo tras la extracción dentaria proporciona una adecuada regeneración ósea a ese nivel, evitando la reabsorción de la cresta alveolar que tiene lugar de modo fisiológico, y logrando conservar la anchura y altura ósea original del hueso alveolar, para permitir la posterior colocación de implantes dentales.

2.2 OBJETIVOS

Este trabajo de investigación pretende analizar la aplicación clínica del β -fosfato tricálcico en alveolos frescos postextracción humanos mediante la realización de un estudio clínico e histológico, por lo que los objetivos del trabajo se resumen en:

1. Analizar los resultados clínicos y radiológicos obtenidos tras la colocación del biomaterial en el alveolo postextracción y la inserción posterior de los implantes dentales.
2. Evaluar el efecto de la aplicación de β -fosfato tricálcico como material de relleno óseo en el interior del alveolo dentario tras la extracción dentaria.
3. Analizar histológicamente e histomorfométricamente la cantidad y la calidad del hueso formado en los alveolos dentarios después de seis meses tras la implantación del biomaterial.
4. Comprobar la evolución en el tiempo del material de relleno:
 - a. Grado de reabsorción del biomaterial en el momento de colocación de los implantes dentales
 - b. Porcentaje de contacto entre el hueso del paciente y las partículas de biomaterial presentes.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDIO

Estudio clínico observacional longitudinal prospectivo.

3.2 PACIENTES

Todos los pacientes incluidos en el estudio presentaban uno o más premolares susceptibles de ser extraídos por diferentes motivos (enfermedad periodontal, fracturas de corona o de raíz, caries radiculares...) y sustituidos mediante la colocación de implantes dentales.

Criterios de inclusión:

- Pacientes adultos (mayores de 18 años).
- Pacientes sanos.
- Pacientes a los que se les debiera extraer uno o varios premolares por causas periodontales, caries o fracturas, y que posteriormente fueran a ser reemplazados mediante implantes dentales.
- El máximo de extracciones a realizar fueron cuatro premolares por paciente, uno en cada cuadrante. Si el paciente presentaba más premolares susceptibles de ser extraídos, éstos no se incluyeron en el estudio.
- Pacientes que, tras haber sido informados de su inclusión en el estudio, firmasen el consentimiento informado y se comprometieran a acudir a las citas necesarias para su realización.

Seguendo a Buser et al (Buser 2000), los **criterios de exclusión** de los pacientes para este estudio son:

- Pacientes con enfermedades endocrino-metabólicas.
- Pacientes con procesos agudos o crónicos, generales o locales.
- Pacientes que sufran patologías que puedan verse influidas por la cirugía en sí o por los fármacos a utilizar intraoperatoriamente o postoperatoriamente (Tabla 8)

TABLA 8. FACTORES DE RIESGO DEL TRATAMIENTO IMPLANTOLÓGICO (Buser 200)	
Prerrequisitos	Capacidad de cicatrización tisular
	Crecimiento óseo finalizado (en situaciones normales)
	Antes del final del crecimiento óseo (en situaciones especiales: ej. casos ortodóncicos)
Factores de riesgo	Hueso irradiado
	Diabetes grave
	Alteraciones de la coagulación
	Consumo excesivo de tabaco
Factores de riesgo elevado	Enfermedades sistémicas graves
	Inmunosupresión
	Drogadicción
	Pacientes no colaboradores

Además, para este estudio se incluyen como criterios de exclusión los siguientes:

- Pacientes con alveolos dentarios en los que se encuentren defectos de la pared alveolar.
- Pacientes que sean fumadores de más de 10 cigarrillos / día.
- Pacientes que estén siendo medicados con bifosfonatos.
- Pacientes que estén siendo medicados con antibióticos en el último mes anterior a la intervención.

Se realizó un **muestreo** no probabilístico de casos consecutivos, es decir, los pacientes se fueron incluyendo en el estudio según cumplían los requisitos anteriormente citados. La procedencia de los mismos fue la clínica universitaria de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid (España) y varias clínicas privadas situadas en la ciudad de Madrid.

3.3 DISEÑO DEL ESTUDIO

Después de una valoración clínica basal, los pacientes que cumplían los criterios de selección fueron informados con relación al estudio, y los que libremente decidieron participar en el mismo, firmaron el consentimiento informado. En esta visita basal, a todos los pacientes incluidos en el estudio, se les explicó su plan de tratamiento de forma detallada y se decidió la fecha de la intervención quirúrgica de colocación de los implantes dentales tras la extracción dentaria (implantación diferida 6 meses). Todos los pacientes incluidos en el estudio recibieron previamente terapia periodontal básica y se insistió en que mantuvieran una buena higiene oral durante toda la duración del estudio (Figura 14).



Figura 14. Visita de valoración basal.

A. Procedimiento quirúrgico:

Tanto las extracciones dentarias como la colocación de los implantes dentales fueron llevadas a cabo por cirujanos en la clínica universitaria de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid (España) y en varias consultas privadas.

Tras la aplicación de anestesia local al paciente, y la elevación de un colgajo

bucal y lingual de espesor completo se realizó la exodoncia de la manera más atraumática posible. Los alveolos dentarios fueron cureteados mediante una legra quirúrgica cuando existía tejido de granulación (Figura 15).

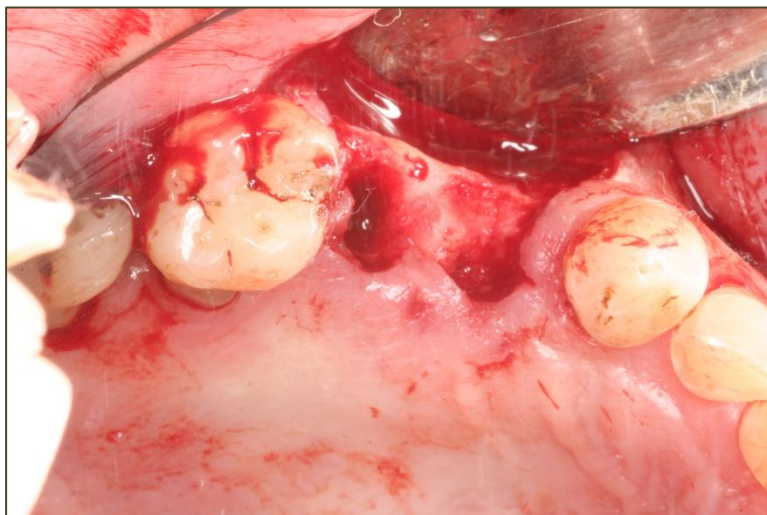


Figura 15. Extracción dentaria de los premolares afectados.

Los alveolos fueron rellenados con el β -fosfato tricálcico KeraOs[®] 0,5 g. (Kerammat, A Coruña, España), que se mezcló para su colocación con suero salino o sangre del propio paciente (Figuras 16a y 16b). No se mezcló en ningún caso con hueso del propio paciente. El alveolo una vez rellenado, se cerró mediante sutura empleando para ello un colgajo de desplazamiento coronal (Figura 17).

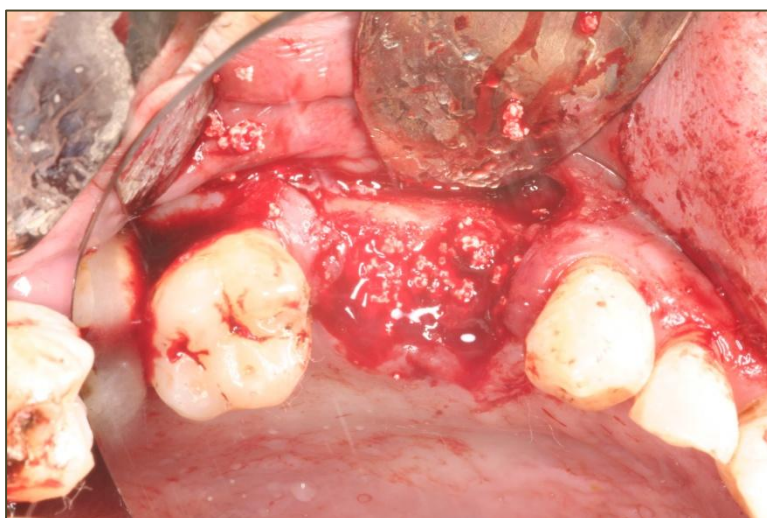


Figura 16a. Relleno del alveolo con β -fosfato tricálcico.



Figura 16b. β -fosfato tricálcico mezclado con sangre del propio paciente.



Figura 17. Cierre del alveolo mediante sutura.

Tras la exodoncia, los pacientes recibieron instrucciones para enjuagues diarios durante dos semanas con digluconato de clorhexidina al 0,12%. Las suturas fueron retiradas a los 7-10 días tras la exodoncia (Figura 18).



Figura 18. Retirada de la sutura a los 7-10 días.

A los seis meses, en la cirugía de colocación de los implantes, tras la aplicación de anestesia local y la elevación de un colgajo mucoperióstico, se evaluó la porción más superficial del área injertada para localizar material de injerto residual. A continuación se obtuvo una muestra del hueso conformado en esa zona por medio del uso de una trefina de 2,2 mm de diámetro interior y 3 mm de exterior, utilizada como fresa piloto (Figura 19). Se colocaron implantes del tamaño adecuado a cada caso de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes y se suturaron las heridas.

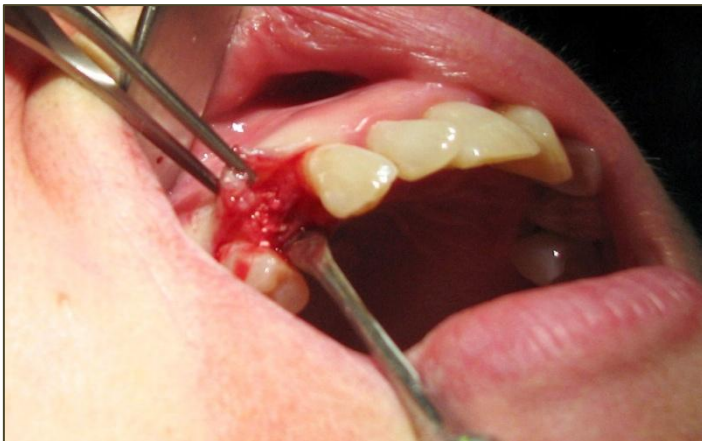


Figura 19. Exposición de la zona injertada en la cirugía de colocación de los implantes.

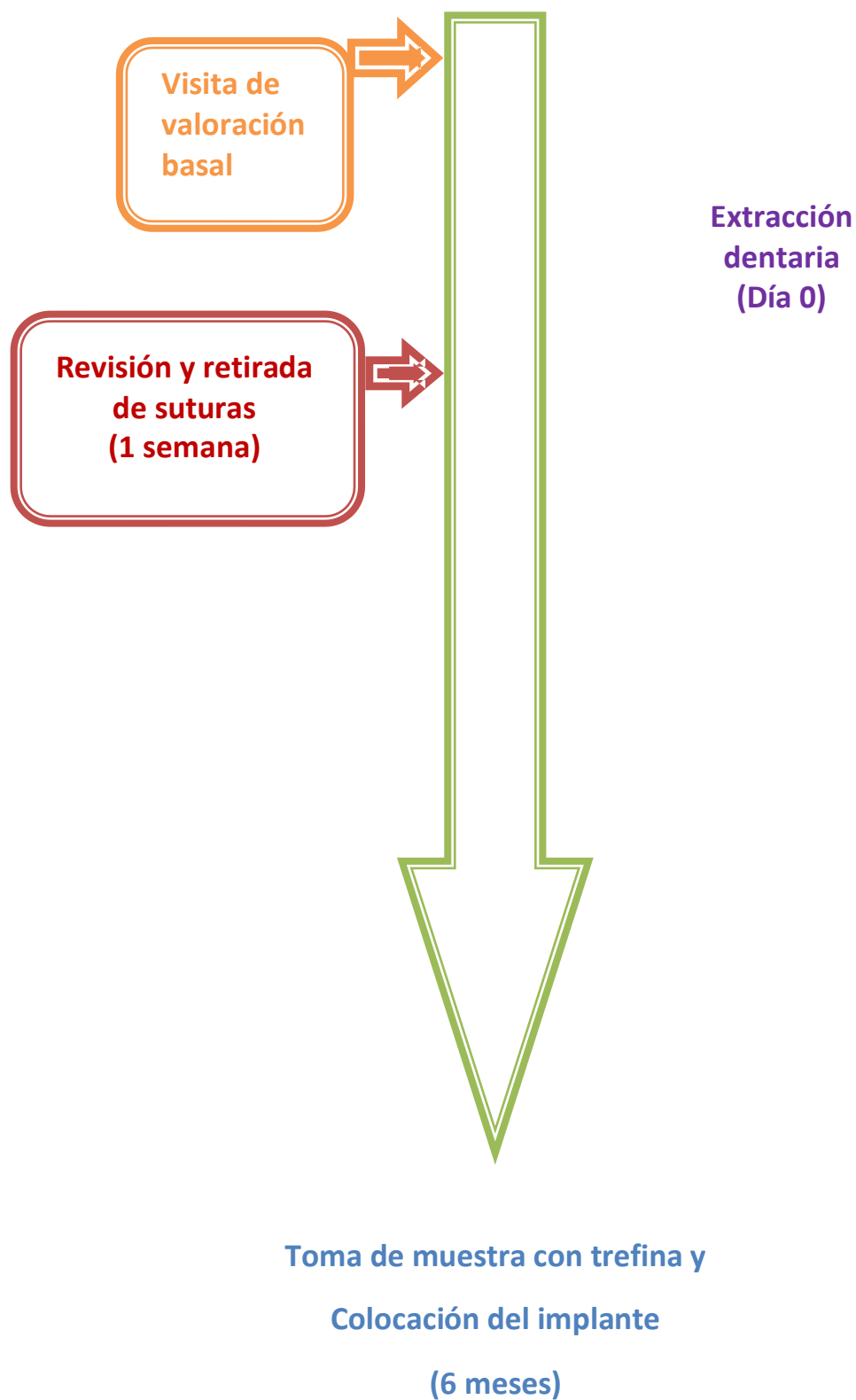
La muestra así obtenida se introdujo con la trefina en un bote de formol tamponado al 10% y se envió al laboratorio del Instituto de Cerámica Gallego (Santiago de Compostela) donde se procedió a su procesamiento y posterior estudio anatomopatológico (Figuras 20a y 20b).



Figura 20a. Trefina utilizada como fresa piloto.

Figura 20b. Inmersión de la trefina con la muestra histológica en un bote de formol al 10%.

Representación esquemática del diseño del estudio:



B. Estudio anatomopatológico:

Las muestras fueron procesadas para su estudio utilizando las técnicas de inclusión en metacrilato descritas por Donath en 1995 (Donath 1995, Cano-Sánchez 2005) con el sistema EXAKT para conseguir láminas delgadas a partir de muestras de hueso sin descalcificar, realizando los siguientes pasos:

1. Fijación

Se introdujo la trefina con la muestra en su interior para proceder a su fijación en una disolución tamponada de formol al 10%. La solución empleada con este fin debe ser a base de formol puesto que es un fijador que evita la degradación del tejido, y debe ser tamponada puesto que de lo contrario, el formol se transforma progresivamente en ácido fórmico, que descalcifica el hueso. Este proceso dura aproximadamente diez días.

2. Deshidratación

Concluido el proceso de fijación, se procedió a la deshidratación de las muestras mediante su introducción en un medio de agua/etanol en condiciones de agitación continua (Figura 21), incrementándose gradualmente la riqueza en etanol, según se indica a continuación:



Figura 21. Muestras sumergidas en agua/etanol sometidas a una agitación constante.

- 70 % etanol durante tres días.
- 80 % etanol durante tres días.
- 96 % etanol durante tres días.
- 100 % etanol durante tres días.
- 100 % etanol durante tres días.

El etanol va desplazando el agua que contiene la muestra con el objetivo de sustituirla por completo, ya que el agua puede estropear las muestras creando burbujas al reaccionar con la resina que se va a utilizar para la inclusión.

3. Infiltración

Concluida la deshidratación se procede a la infiltración plástica. Esto se hizo mezclando glicometacrilato (Resina Technovit 7200®, VLC - Heraeus Kulzer GMBH, Werheim, Alemania) y peróxido de benzoilo (BPO®: Heraeus Kulzer GMBH, Werheim, Alemania) al 1% con etanol en proporciones crecientes de glicometacrilato, finalizando con dos infiltraciones de glicometacrilato puro, bajo agitación constante y en ausencia de luz para evitar la polimerización de la resina debida a la luz ambiente y las condiciones de agitación; según el siguiente procedimiento:

- Technovit 7200® + BPO: etanol (30:70) durante tres días.
- Technovit 7200® + BPO: etanol (50:50) durante tres días.
- Technovit 7200® + BPO: etanol (70:30) durante tres días.
- Technovit 7200® + BPO (100) durante tres días.
- Technovit 7200® + BPO (100) durante tres días en vacío.

4. Inclusión y polimerización

Para llevar a cabo la inclusión se introdujeron las muestras de tejido con las trefinas que las contenían en unos moldes de polietileno; se colocaron de manera que las ventanas laterales de la trefina quedasen orientadas hacia el plano superior e inferior, se fijaron en la posición correcta utilizando la resina Technovit 7230®, que es más densa y posteriormente se rellenaron los moldes con la resina Technovit 7200®, que es muy fluida, bajo el efecto de vacío (Exakt 530 y 520).

La polimerización ha de realizarse en ausencia de oxígeno, por lo que se taparon los moldes con una lámina de plástico que los aisló del oxígeno ambiental. El proceso tuvo lugar en dos pasos:

- Paso 1: usando una luz blanca de baja intensidad durante dos horas (manteniendo los moldes a una temperatura por debajo de 40°C con un sistema de refrigeración por agua, para que la resina se polimerizara extensa y gradualmente, evitando así la desnaturalización de las muestras y los posteriores artefactos).
- Paso 2: usando una luz azul de gran intensidad, de forma que el metacrilato que ha sido incluido dentro del tejido también resulte completamente polimerizado. Este paso tuvo una duración de unas cuatro horas, aunque varía según el grosor de las muestras (Figura 22).

Por último, permanecieron en la estufa durante 24 horas para que el peróxido de benzoilo terminara su proceso de polimerización.



Figura 22. Sistema de polimerización de la resina mediante luz blanca y luz azul.

5. Preparación del bloque para obtener una superficie paralela

Una vez polimerizado, se extrajo el bloque del molde. El siguiente paso fue realizar un corte preliminar para aproximar el área de interés más cerca de la superficie del bloque. Esto se realizó con la ayuda de una sierra de banda (Exakt 300 CP) (Figura 23) e irrigando para evitar sobrecalentamientos en la muestra, que podrían deteriorar los tejidos.



Figura 23. Sierra de banda del sistema Exact utilizada para cortar las muestras una vez polimerizada la resina.

A continuación, para preservar el paralelismo de los cortes a realizar, los bloques se montaron en una lámina acrílica con ayuda de una resina (Technovit 4000® - Heraus Kulzer GMBH, Werheim, Alemania) mediante el empleo de una prensa de pegado y una bomba de vacío (Exakt 401) (Figura 24), que sujeta el porta a la parte superior de la prensa. La resina se extendió por la parte de atrás del bloque, de manera que la parte que va a ser examinada contacte con la parte de debajo de la prensa de pegado. Cuando la polimerización finalizó el bloque estuvo listo para ser pulido.



Figura 24. Bomba de vacío utilizada para pegar la muestra incluida en la resina a un porta de metacrilato.

6. Preparación de la superficie de interés y sellado de la lámina

El siguiente paso fue el pulido de la muestra por la superficie de interés con la ayuda de papeles abrasivos del número 1200. Tras realizar esta práctica, y con la ayuda de la prensa de fotopegado (Exakt 402) y una resina específica (Technovit 7210® - Heraus Kulzer GMBH, Werheim, Alemania), la cara a estudiar se pegó en el porta definitivo. Posteriormente, utilizando una sierra de banda (Exakt 300 CP, System, Aparatebau GMBH, Hamburg, Alemania) y un portamuestra de vacío, se realizó un corte preliminar obteniendo una sección fina de 200 micras aproximadamente. Esta sección fue sometida a un microdesgaste (Exakt 400CS, Aparatebau GMBH, Hamburg,

Alemania) y pulimento con papeles de carburo de silicio de 500, 800 (para el desbaste inicial), 1200 (para igualar la superficie) y 2400 (para la finalización) (Figura 25).



Figura 25. Máquina utilizada para realizar el microdesgaste y pulido de las secciones de 200 micras.

El resultado final fueron secciones longitudinales de aproximadamente 70 micras de espesor, que una vez teñidas se preservaron mediante la aplicación de un cubreobjetos de vidrio con bálsamo de Canadá para microscopía (Fluka Biochemika, USA), y cuyos bordes fueron sellados con resina acrílica.

7. Tinción

Concluido el proceso de adelgazamiento, se llevó a cabo la tinción mediante la técnica de Levai Laczko o la de Cromotrope 2R/Hematoxilina de Harris. La elección de estos dos métodos se debe a que la inclusión en resina de las muestras no permite utilizar tinciones más habituales como la hematoxilina/eosina, más utilizada cuando se realizan preparaciones en parafina de tejidos blandos. Ambas tinciones permiten diferenciar el grado de calcificación de los tejidos porque revelan muy bien la presencia de fibras colágenas, yendo desde un color pálido para los tejidos poco calcificados hasta un color intenso en las zonas de mayor calcificación. En el caso de la tinción Cromotrope 2R/Hematoxilina de Harris, la calcificación del tejido óseo va desde un color rojo-fucsia

pálido a un rojo-fucsia intenso, y en el caso de la tinción Levai Laczko la calcificación va de un azul pálido a un azul intenso.

Previo a la tinción se realizó un lavado de la muestra en una cuba de ultrasonidos y con agua y un jabón suave con la finalidad de eliminar tanto la suciedad provocada por el ambiente como la generada por el proceso de pulido. Esto evita que los colorantes produzcan artefactos en las muestras. Para evitar una contaminación durante el proceso de tinción, el mismo se llevó a cabo en una campana de flujo laminar (Figura 26) que impide la presencia de contaminantes ambientales.



Figura 26. Campana de flujo laminar en la que se llevó a cabo el proceso de tinción de las muestras.

La tinción de Levai Laczko se realiza siguiendo los pasos descritos a continuación:

- Preparación de una disolución acuosa de Azurina y Azul de Metileno en proporción 1:1
- Preparación de una disolución acuosa al 0.5% en peso de Fucsina (o Safranina 0)
- Se sumergen las muestras en agua oxigenada al 30% durante 5 minutos.

- Se sumerge la lámina delgada entre 2 y 5 minutos en la disolución de azul de metileno.
- Lavado con agua destilada.
- Se sumergen en la disolución de fucsina al 0.5%.
- Lavado con agua destilada.
- Retirada del exceso de agua y secado.
- Cubierta de la preparación con bálsamo de Canadá y un cubreobjetos.

La tinción Cromotopo 2R / Hematoxilina de Harris se trata de una combinación de dos tinciones que se realizan de forma consecutiva en el mismo proceso:

- Disolución tricrómica (según Wheatley): Se trata de una disolución de Cromotopo 2R, "Light green SF", Acido fosfotúngstico y ácido acético glacial en agua destilada.
- Disolución de Hematoxilina de Harris: Se trata de una disolución de óxido de mercurio II, hematoxilina, aluminio potasio sulfato 12 hidrato y etanol al 96% en agua destilada.

El procedimiento para llevar a cabo la tinción es el siguiente:

- Se sumerge la lámina delgada entre 5 y 10 minutos en la disolución de hematoxilina (previamente calentada a 37°C).
- Aclarado con agua corriente.
- Se sumerge la lámina delgada entre 5 y 7 minutos en la disolución tricrómica (previamente calentada a 37°C).

- Lavado con agua destilada.
- Secado y cubrir con Bálsamo de Canadá.
- Protección de la muestra con un cubreobjetos.

8. Estudio histológico e histomorfométrico

Para el estudio histológico de las muestras se utilizó un microscopio Olympus BX51 motorizado con cámara Olympus DP71. Las muestras se examinaron con la misma magnificación (40x, 100x, 200x y 400x. Los valores más pequeños se utilizan para la valoración histomorfométrica y la magnificación más alta para la valoración patológica) y se fotografiaron para el posterior análisis histomorfométrico. El software de captura utilizado fue el Cell-D de Olympus. El software de tratamiento de imágenes fue el Photoshop CS3 con una pen tablet Wacom Intuos 4L, y el programa de medición para la histomorfometría fue el Microimage 4.0 de Olympus.

Los datos histomorfométricos registrados fueron los siguientes:

- Área de hueso neoformado
- Área de hueso inmaduro
- Área de hueso viejo
- Área de biomaterial
- Área de hueso lamelar
- Índice de contacto hueso-implante
- Volumen remanente
- Relación hueso inmaduro-hueso maduro

C. Abandono del estudio:

Los pacientes pudieron abandonar su participación en el estudio, por voluntad propia en cualquier momento del estudio y sin perjuicio de futuros tratamientos o de un seguimiento y control del tratamiento implantológico. La participación de los pacientes en el estudio también pudo ser interrumpida a juicio del investigador principal cuando éste lo considerase oportuno. Los pacientes debían abandonar el estudio en caso de cualquier complicación médica que requiriese una intervención activa, de incumplimiento del protocolo, de cualquier acontecimiento adverso no aceptable o del deseo de no continuar en el estudio.

Tras el abandono, se realizaron en una visita de control una exploración física intraoral, una radiografía periapical de control de nivel óseo, el registro de los acontecimientos adversos y de la medicación concomitante.

3.4 VARIABLES ESTUDIADAS

Las variables recogidas en el estudio se dividen en variables relativas al individuo, variables clínicas, variables histológicas y variables histomorfométricas.

Variables del individuo:

- Sexo.
- Edad.
- Hábitos tóxicos: ingesta de alcohol y tabaquismo.

Variables clínicas:

- Migración del biomaterial: observada en la cirugía de colocación de los implantes.
- Hallazgos radiológicos: radioopacidad del material, complicaciones.
- Estabilidad primaria de los implantes.

Variables histológicas:

- Grado de neoformación ósea en el alveolo a los seis meses.
- Cantidad y calidad de hueso neoformado a los seis meses.
- Grado de contacto del hueso del paciente con el β -fosfato tricálcico remanente a los seis meses.
- Grado de reabsorción del β -fosfato tricálcico a los seis meses.

Variables histomorfométricas:

- Área de hueso neoformado
- Área de hueso inmaduro

- Área de hueso viejo
- Área de biomaterial
- Área de hueso lamelar
- Índice de contacto hueso-implante: $\text{perímetro de material tocando hueso} / \text{perímetro total del material}$.
- Volumen remanente: $\text{superficie del material presente} / [\text{superficie del material presente} + \text{superficie total del hueso}]$.
- Relación hueso inmaduro-hueso maduro: $\text{superficie de hueso maduro} / \text{superficie de hueso total}$.

3.5 RECOGIDA DE DATOS

La recogida de los datos del paciente y los datos clínicos se realizó en tres citas mediante los formularios de recogida de datos (Ver Anexos):

Cita 1: Día de la extracción dentaria.

Cita 2: Día de la retirada de la sutura a los 7-10 días tras la extracción.

Cita 3: Día de colocación del/los implante/s dental/es y toma de muestra/s histológica/s, 6 meses tras la extracción.

Los datos relativos a la histología e histomorfometría se recogieron del informe anatomopatológico elaborado por el laboratorio de anatomía patológica.

3.6 ANÁLISIS DE LOS DATOS

Mediante el empleo de Microsoft Excel y SPSS se llevaron a cabo los siguientes análisis estadísticos:

- Estadística descriptiva de las variables del individuo, clínicas e histomorfométricas.
- Histogramas de frecuencias de las variables histomorfométricas.
- Pruebas de normalidad de las variables histomorfométricas, edad y tiempo de cicatrización, empleando el test de Shapiro-Wilks.
- Intervalos de confianza de las medias al 95% de todas las variables histomorfométricas para comprobar en que intervalo se situaría la media poblacional con una seguridad del 95%.
- Coeficiente de correlación simple de Pearson, para comprobar la relación de las diferentes variables histomorfométricas entre sí y con el tiempo de cicatrización y la edad.
- Análisis de la varianza para contraste de medias para comprobar si los valores medios de las variables área de hueso neoformado, área de biomaterial e índice de contacto hueso-implante eran diferentes según el tiempo de cicatrización transcurrido.
- Test de la t de Student para comparar el área de hueso neoformado, el área de biomaterial y el índice de contacto hueso -implante en los tiempos menores (5 y 6 meses) y mayores (7 y 8 meses) de cicatrización.

Se consideraron significativos los valores de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 VARIABLES RELATIVAS AL INDIVIDUO

Sexo y edad: Finalmente, participaron en el estudio 16 pacientes entre Marzo de 2008 y Julio de 2010, con un media de edad de 44,3 años (desviación estándar: 10,74); siete de ellos eran hombres (44%) con una media de edad de 39,7 años; y nueve eran mujeres (56%) con una media de edad de 48 años.

Hábitos tóxicos: Ninguno de los participantes era bebedor habitual (0%), y dos eran fumadores (12%).

Estos datos se recogen en los gráficos 1-5.

Se extrajeron 19 dientes superiores (90%) y 2 inferiores (10%).

Un varón abandonó el estudio antes de la colocación de los implantes. De los 15 pacientes restantes se tomaron 21 biopsias con un tiempo medio de curación de 6,2 meses (desviación estándar: $\pm 1,05$). De las 21 biopsias, tres se deterioraron en el pulido, no pudiendo procesarse, y en dos se detectó una toma incorrecta de la muestra, por lo que no se analizaron. Por tanto, se realizó análisis histológico y análisis histomorfométrico en 16 biopsias.

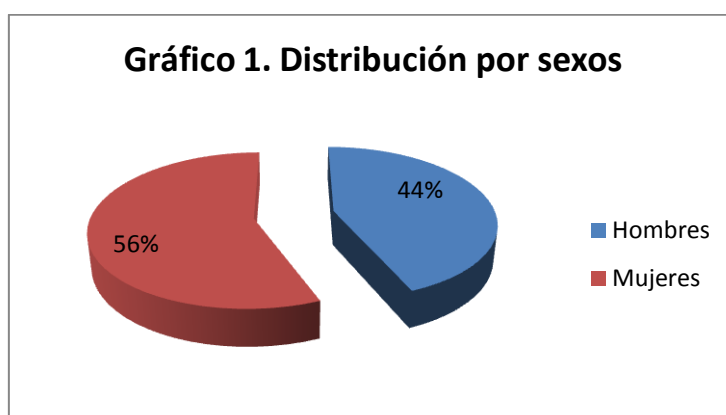


Gráfico 2. Distribución por grupos de edad (años)

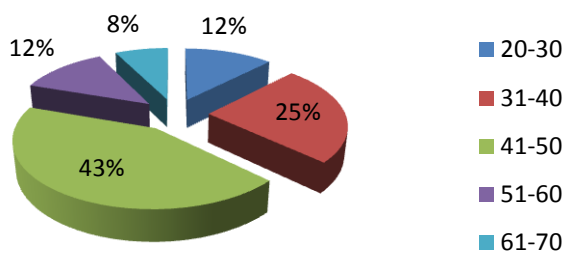


Gráfico 3. Hábitos tóxicos (tabaco)

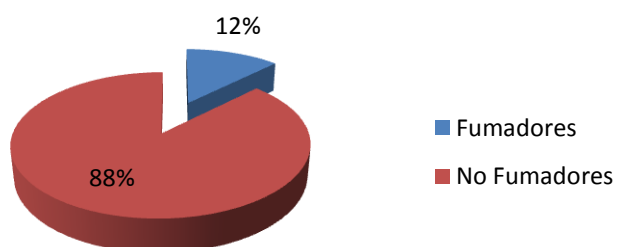


Gráfico 4. Hábitos tóxicos (alcohol)

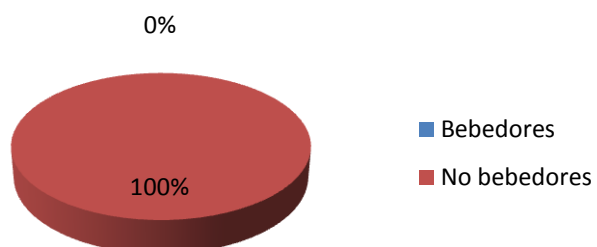
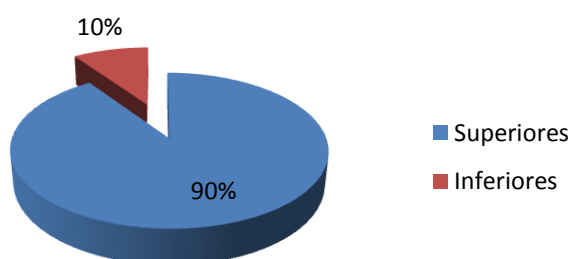


Gráfico 5. Dientes superiores e inferiores extraídos



4.2 VARIABLES CLÍNICAS

Migración del biomaterial: en ninguno de los pacientes (0%) se detectó una migración del biomaterial en el momento de la cirugía de colocación de los implantes; en varios casos, en la zona más superficial se podían visualizar partículas de injerto residuales, las cuales no afectaron ni al procedimiento quirúrgico ni a la estabilidad primaria de los implantes.

Estabilidad primaria: En todos los casos se logró una estabilidad primaria de los implantes (100%).

Hallazgos radiológicos: en cuanto a los hallazgos radiológicos, no se encontraron complicaciones ni hallazgos de interés, a excepción de la gran radioopacidad del material, lo que lo hace fácilmente identificable radiográficamente (Figura 27).

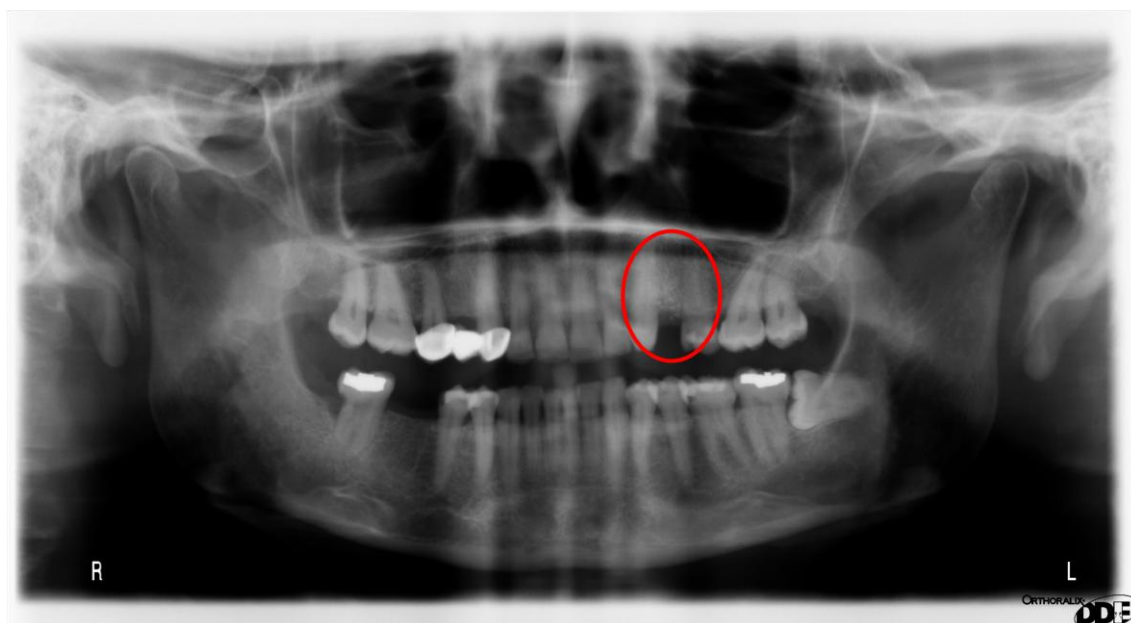


Figura 27. Ortopantomografía en la que se aprecia el biomaterial 6 meses después de ser colocado en el alveolo postextracción del 2.4

4.3 VARIABLES HISTOLÓGICAS

De las 16 biopsias analizadas, en un caso se encontraron fragmentos de biomaterial junto a esquirlas de hueso necrótico, señalando una falta de integración del biomaterial. En las demás muestras se encontró biomaterial integrado en el hueso, rodeado de tejido fibroso con escaso ribete osteoblástico y de osteoide en tres casos; rodeado de tejido conjuntivo laxo en un caso; rodeado de trabéculas óseas maduras con escaso osteoide y ribete osteoblástico en cinco casos; y un crecimiento de trabéculas óseas inmaduras de discreto a muy abundante con osteoide y ribete osteoblástico en ocho biopsias. En diez de las biopsias se describió la presencia de fibrosis medular, discreta en la mayoría de los casos.

Se encontró evidencia de crecimiento de hueso vital en los alveolos y de neoformación ósea en íntimo contacto con las partículas del injerto. En todas las muestras se encontraron partículas residuales del material y se describieron varios grados de remodelado y reabsorción del material en las diferentes biopsias (Figuras 28-33).

Se pueden describir las variables histológicas de la siguiente manera:

Grado de neoformación ósea en el alveolo a los seis meses: en general es moderado

Cantidad y calidad de hueso neoformado a los seis meses: la cantidad de hueso neoformado varía mucho, catalogándose desde moderada a muy abundante según la biopsia. El hueso neoformado es inmaduro, como corresponde al tiempo transcurrido

Grado de contacto del hueso del paciente con el β -fosfato tricálcico remanente

a los seis meses: el hueso neoformado engloba a los fragmentos del biomaterial, estando en contacto directo con él.

Grado de reabsorción del β -fosfato tricálcico a los seis meses: el biomaterial comienza a reabsorberse, pero los signos de reabsorción son aún iniciales.

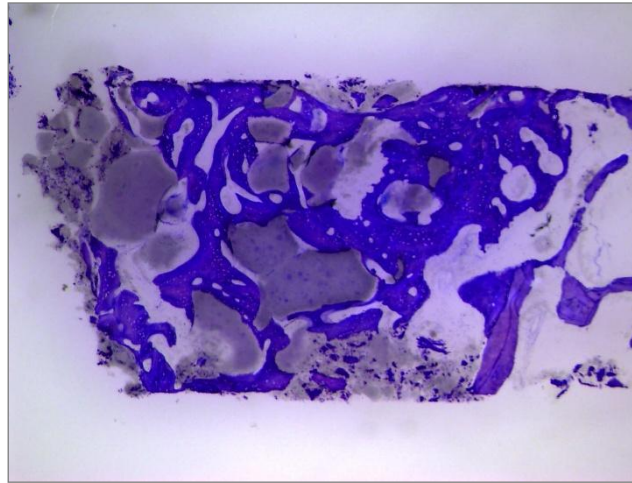


Figura 28. Corte sagital de una biopsia. Se observa abundante hueso neoformado alrededor del biomaterial, incluso englobando los fragmentos de éste. No se observa demasiada reabsorción, apenas algunos indicios en la zona central de la biopsia. La mayor parte del hueso que se observa es nuevo, con trazas de hueso viejo en la periferia. Tinción de Levai Laczko. 40X

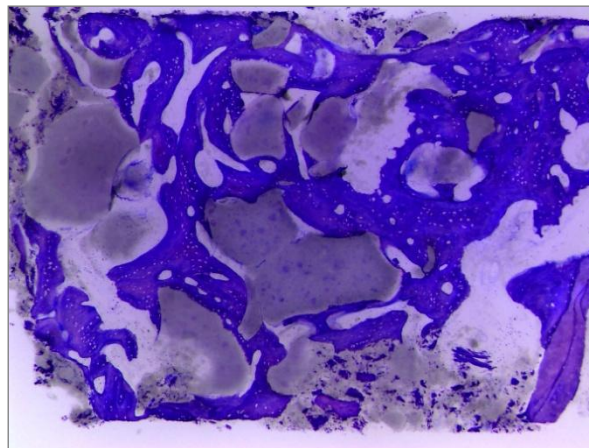


Figura 29. Detalle de la anterior a mayor aumento. 100X

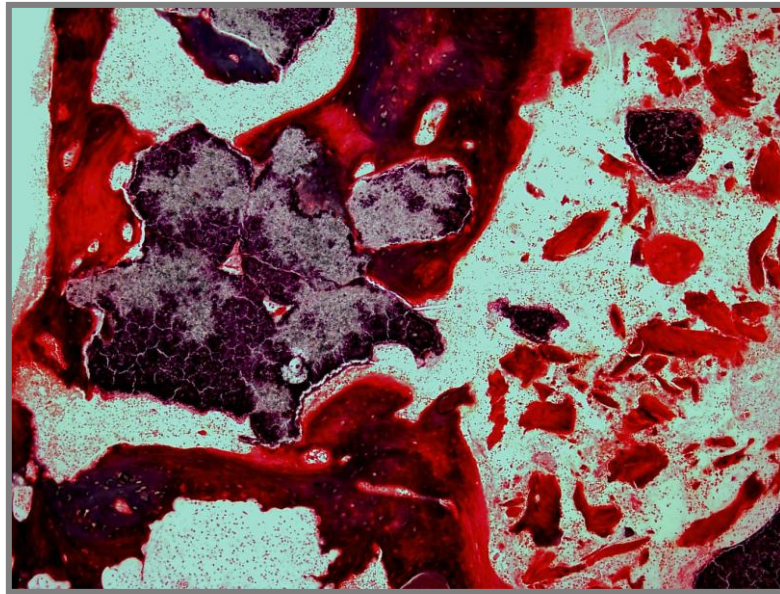


Figura 30. Corte sagital de una biopsia. En ella se aprecia material de implante medular con un muy abundante crecimiento de trabéculas óseas inmaduras con osteoide y ribete osteoblástico rodeando el material de implante. Tinción Cromotrope 2R/Hematoxilina. 40X

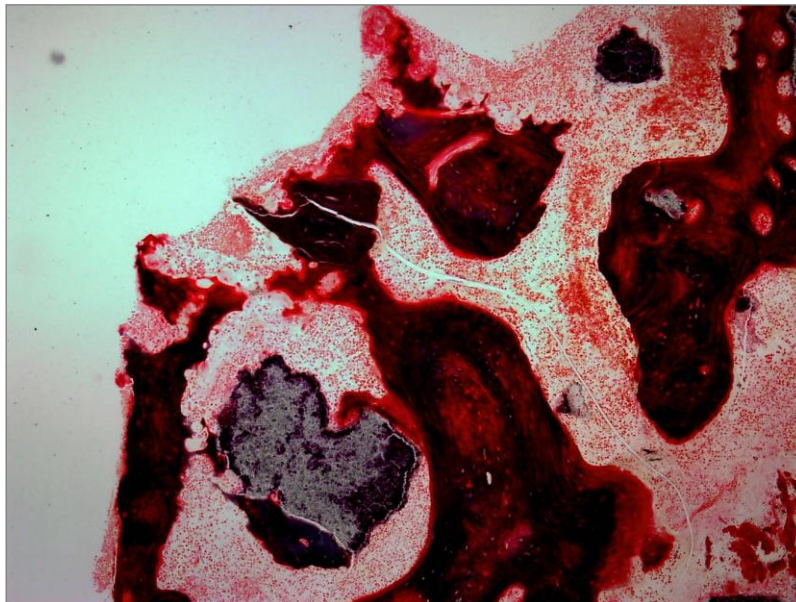


Figura 31. Detalle de la anterior.
100X



Figura 32. Corte sagital de una biopsia en la se observa el material de implante con moderado crecimiento de trabéculas óseas inmaduras con osteoide y ribete osteoblástico. Tinción Cromotropo 2R / Hematoxilina. 40X

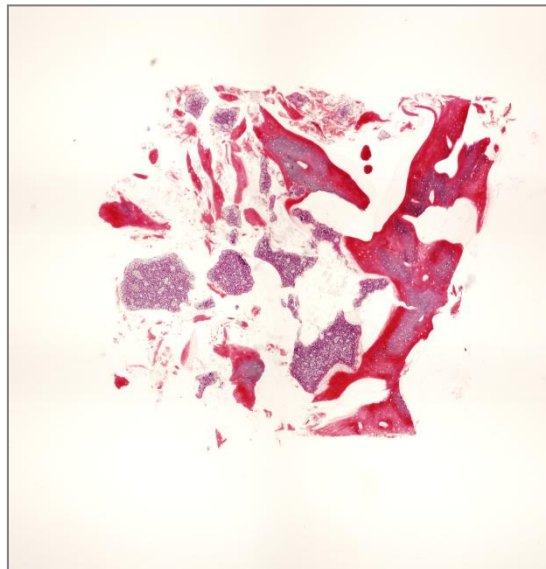
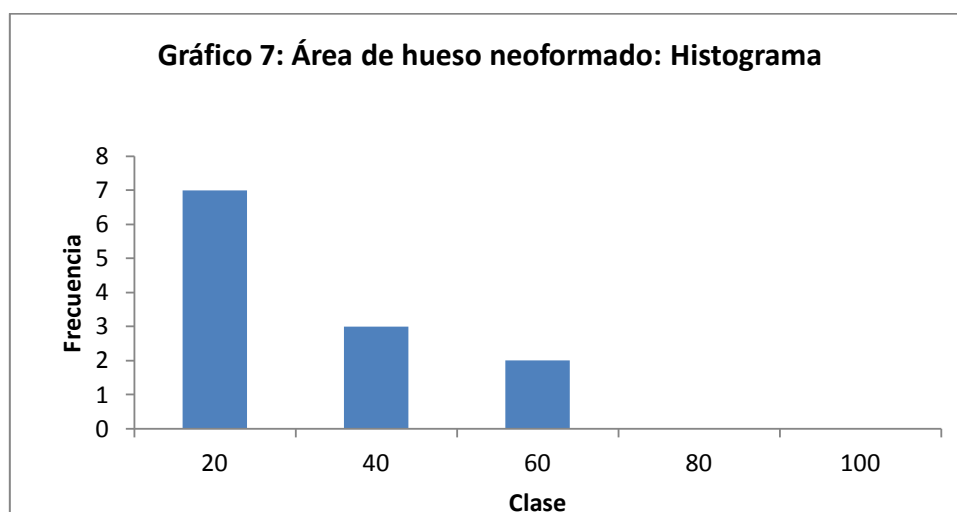
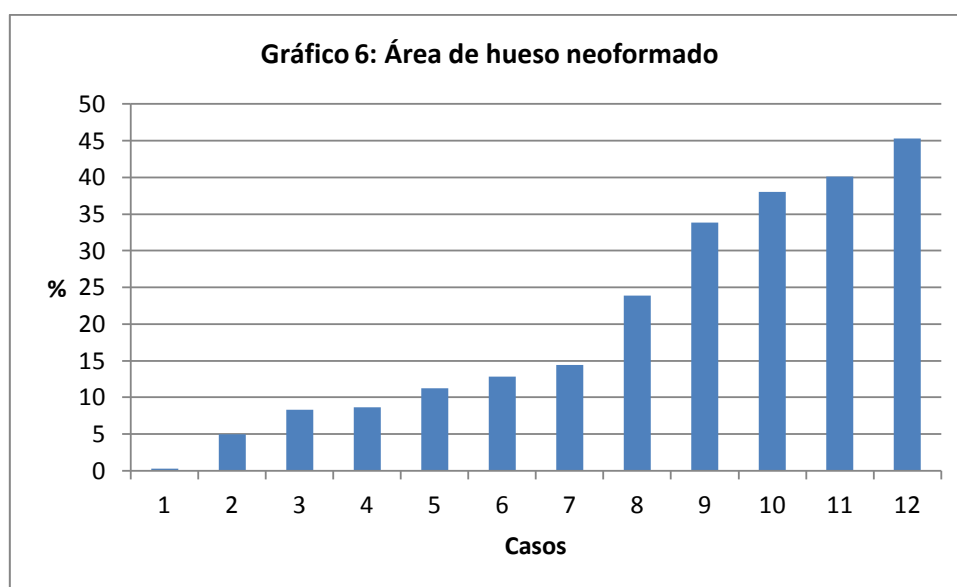


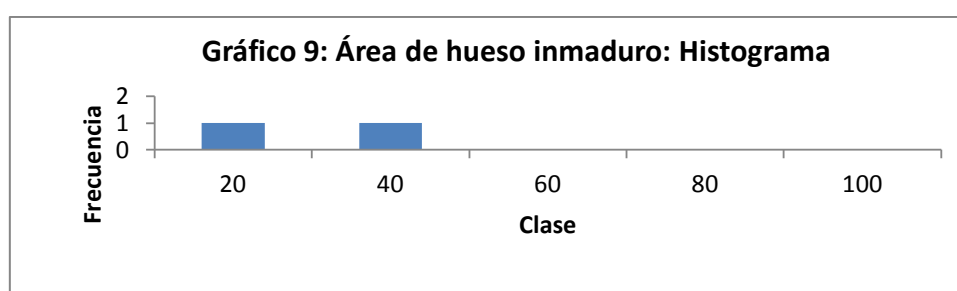
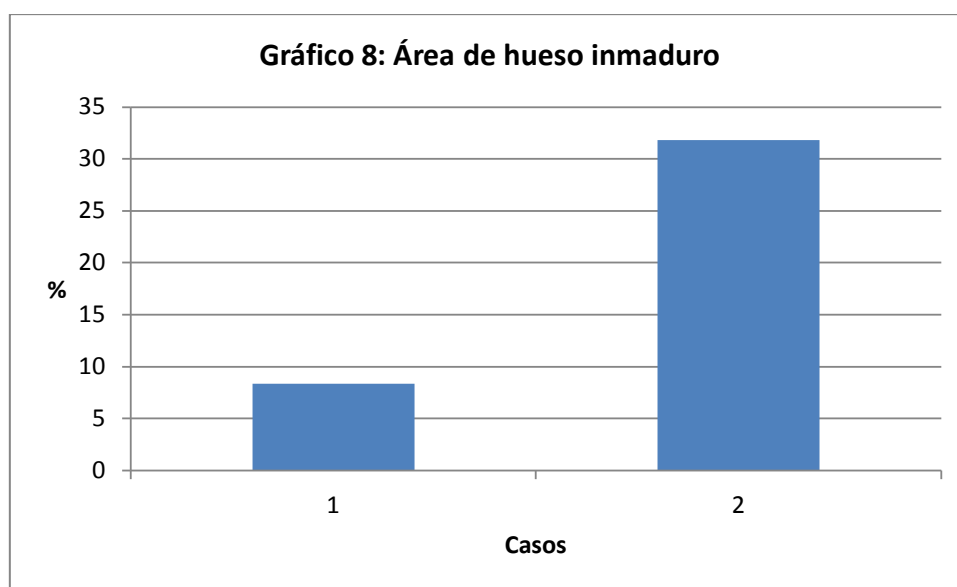
Figura 33. Corte sagital de una biopsia en el que se observa el material de implante adyacente a la cortical ósea, mostrándose un moderado crecimiento de trabéculas óseas inmaduras con osteoide y ribete osteoblástico entre los fragmentos del material de implante. Tinción Cromotropo 2R / Hematoxilina. 40X

4.4 VARIABLES HISTOMORFOMÉTRICAS

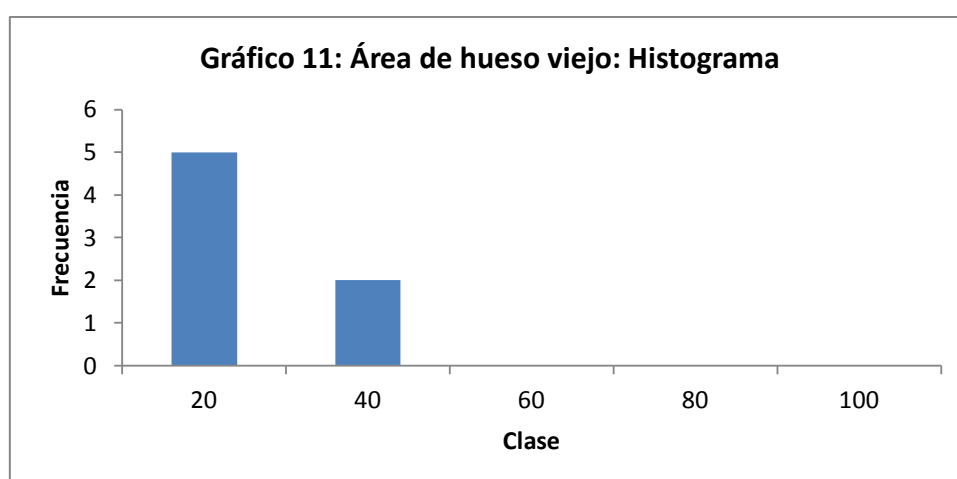
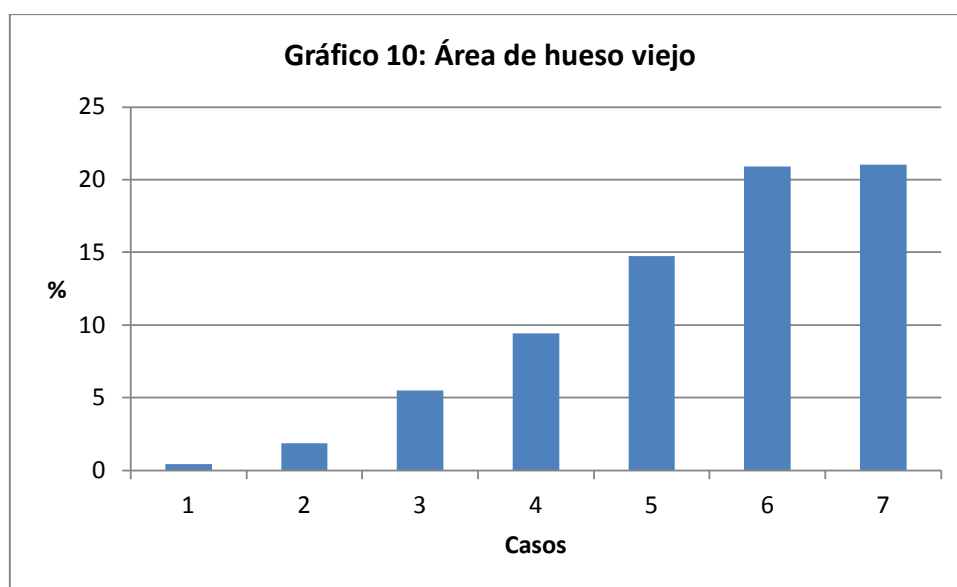
Área de hueso neoformado: esta variable se analizó en 12 biopsias, variando entre el 0,30 y 45,33%. La media fue de 20,15%, con una desviación estándar de 15,42. Se muestran el gráfico de barras relativo a estos datos y el histograma de frecuencias en los gráficos 6 y 7.



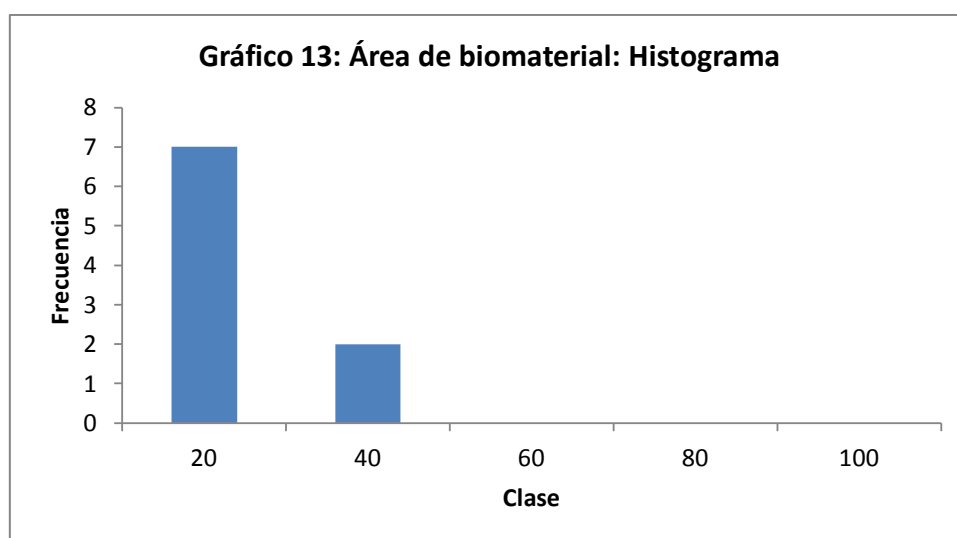
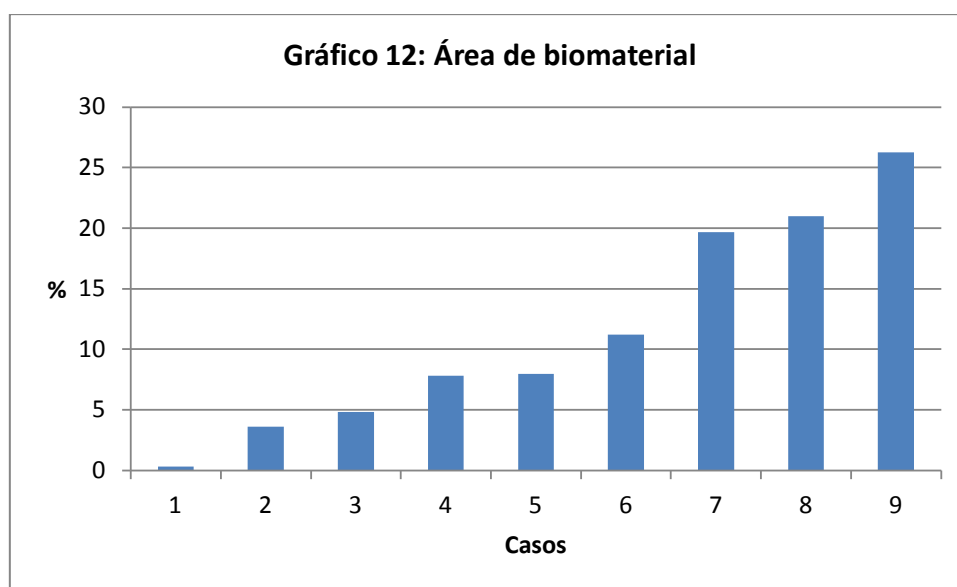
Área de hueso inmaduro: esta variable se analizó en 2 biopsias, variando entre el 8,34 y 31,80%. La media fue de 20,07%, con una desviación estándar de 16,59. Se muestran el gráfico de barras relativo a estos datos y el histograma de frecuencias en los gráficos 8 y 9.



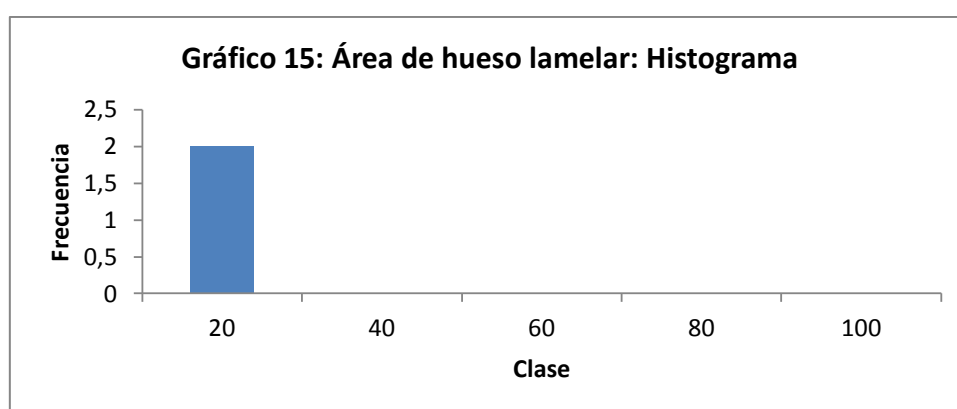
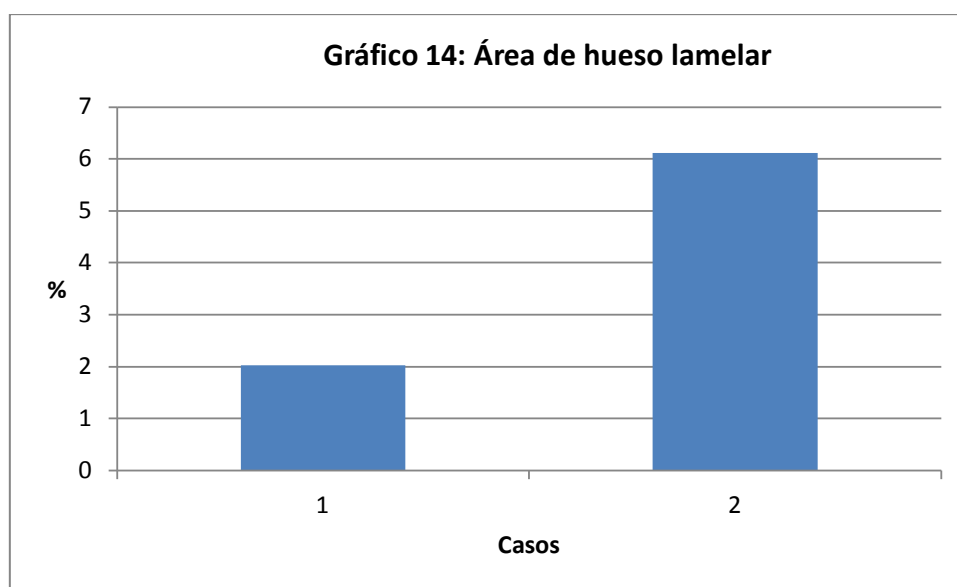
Área de hueso viejo: esta variable se analizó en 7 biopsias, variando entre el 0,43 y 21,03%. La media fue de 11,99%, con una desviación estándar de 7,65. Se muestran el gráfico de barras relativo a estos datos y el histograma de frecuencias en los gráficos 10 y 11.



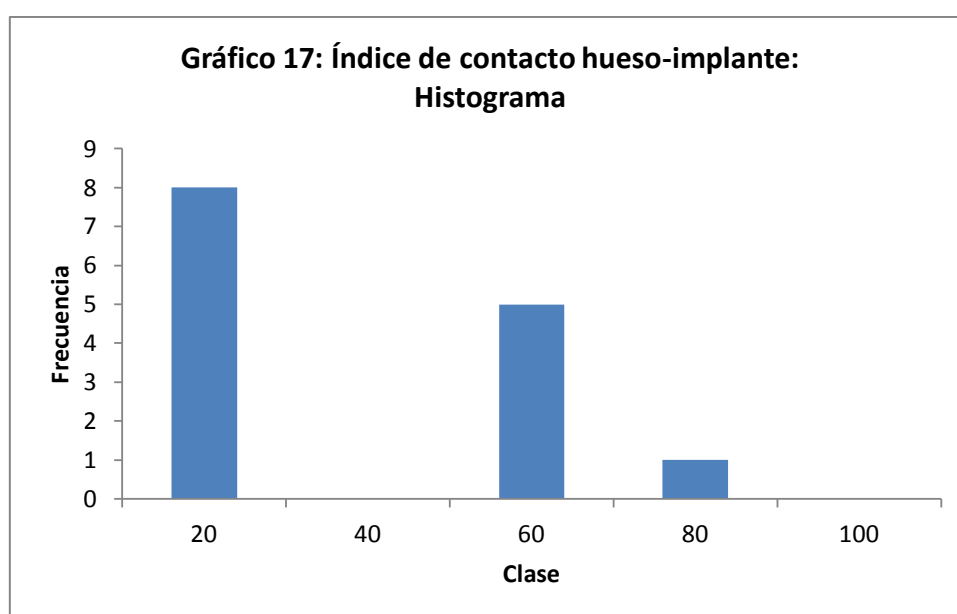
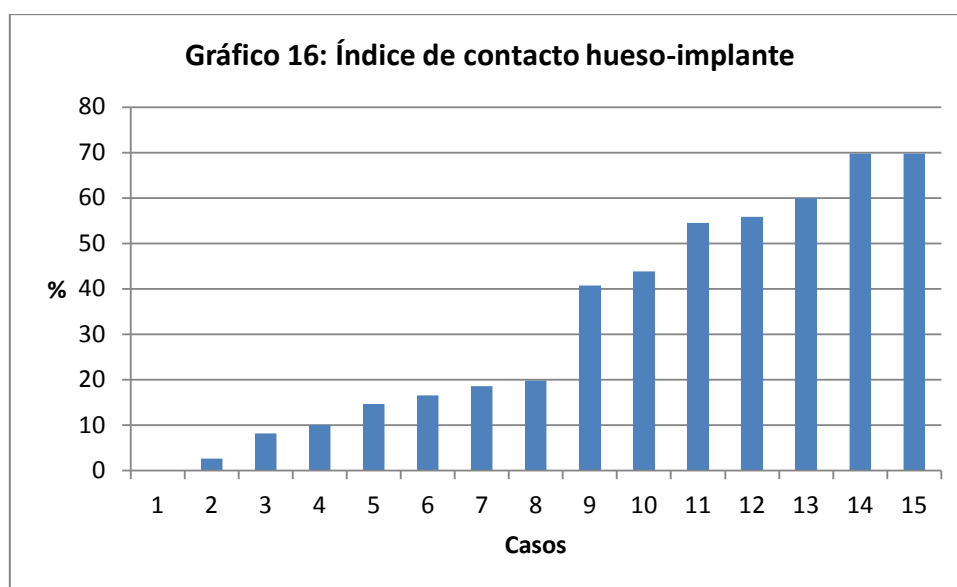
Área de biomaterial: esta variable se analizó en 9 biopsias, variando entre el 0,33 y 26,25%. La media fue de 11,41%, con una desviación estándar de 8,88. Se muestran el gráfico de barras relativo a estos datos y el histograma de frecuencias en los gráficos 12 y 13.



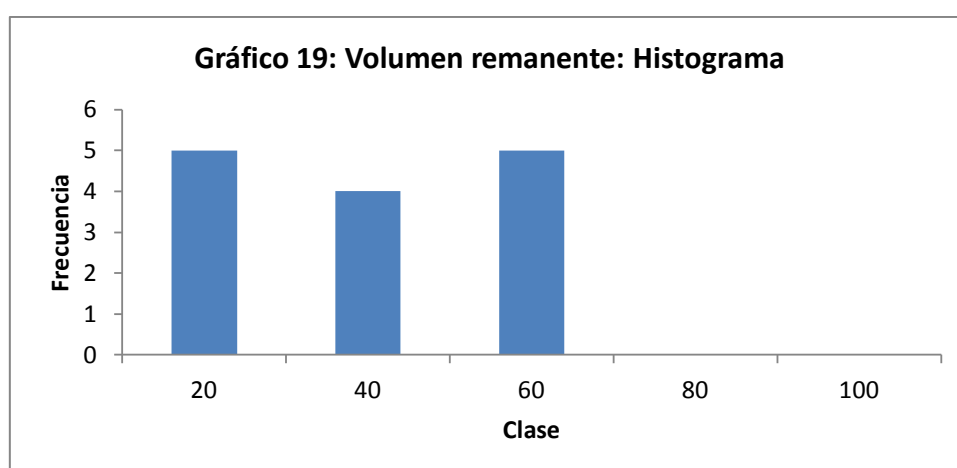
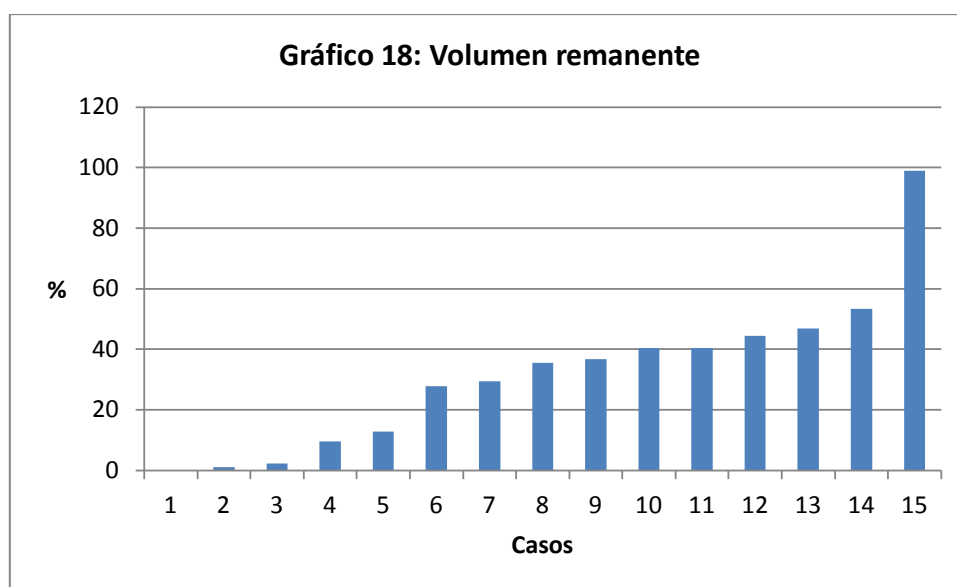
Área de hueso lamelar: esta variable se analizó en 2 biopsias, variando entre el 2,02 y 6,11%. La media fue de 4,06%, con una desviación estándar de 2,89. Se muestran el gráfico de barras relativo a estos datos y el histograma de frecuencias en los gráficos 14 y 15.



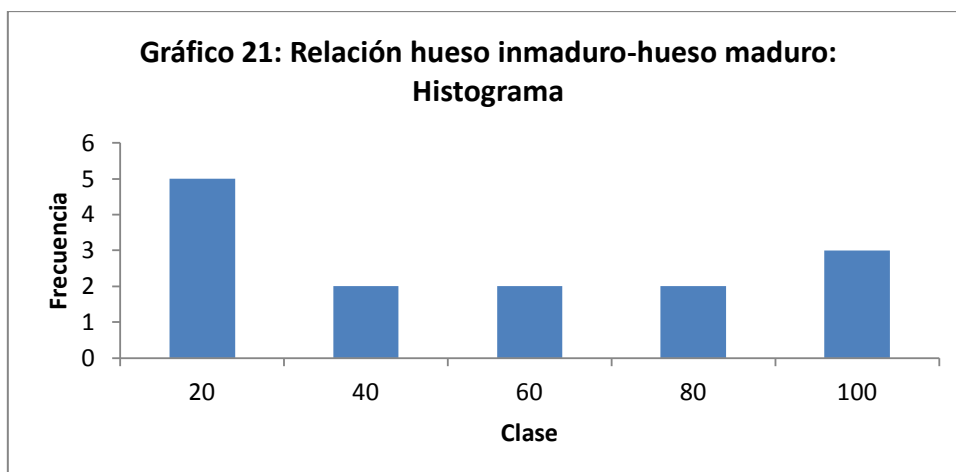
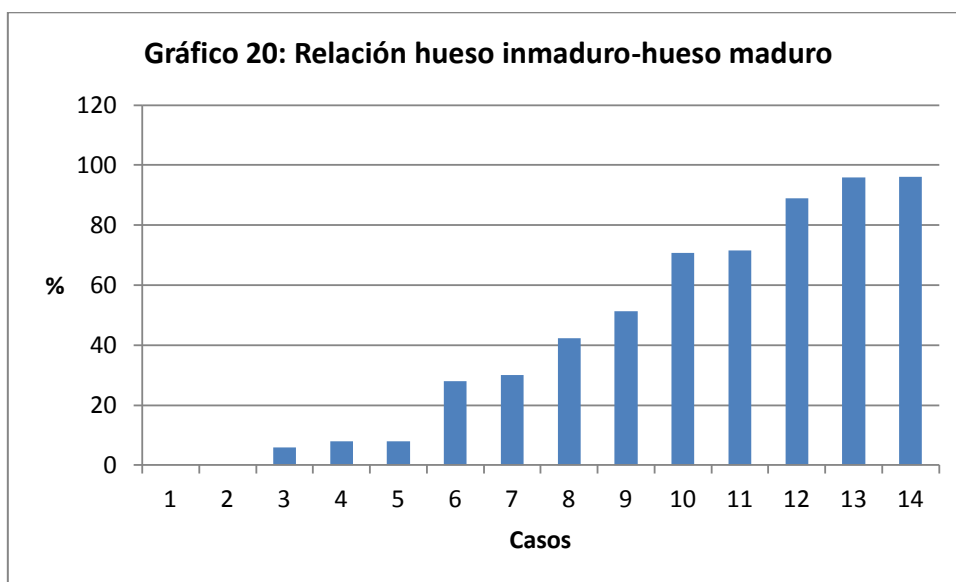
Índice de contacto hueso-implante: esta variable se analizó en 15 biopsias, variando entre el 0 y 69,7%. La media fue de 32,31%, con una desviación estándar de 24,95. Se muestran el gráfico de barras relativo a estos datos y el histograma de frecuencias en los gráficos 16 y 17.



Volumen remanente: esta variable se analizó en 15 biopsias, variando entre el 0 y 98,85%. La media fue de 31,98%, con una desviación estándar de 25,69. Se muestran el gráfico de barras relativo a estos datos y el histograma de frecuencias en los gráficos 18 y 19.



Relación hueso inmaduro-hueso maduro: esta variable se analizó en 14 biopsias, variando entre el 0 y 96,07%. La media fue de 42,63%, con una desviación estándar de 36,49. Se muestran el gráfico de barras relativo a estos datos y el histograma de frecuencias en los gráficos 20 y 21.



Los datos descriptivos de las variables histomorfométricas se recogen en la tabla 9.

TABLA 9. DESCRIPTIVOS DE LAS VARIABLES HISTOMORFOMÉTRICAS					
Variables (%)	Valor mínimo	Valor máximo	Media	Mediana	Desviación estándar
Área de hueso neoformado	0,30	45,33	20,15	13,64	15,42
Área de hueso inmaduro	8,34	31,80	20,07	20,07	16,58
Área de hueso viejo	0,43	21,03	11,98	11,87	7,65
Área de biomaterial	0,33	26,25	11,40	7,99	8,88
Área de hueso lamelar	2,02	6,11	4,06	4,06	2,89
Índice de contacto hueso-implante	0	69,7	32,31	19,82	24,94
Volumen remanente	0	98,85	31,98	35,6	25,68
Relación hueso inmaduro-hueso maduro	0	96,07	42,62	36,13	36,48

A continuación, se realizaron pruebas de normalidad para comprobar la distribución de las variables. Para ello se empleó el test de Shapiro-Wilk, indicado cuando se analizan muestras pequeñas como en este caso; y los resultados indicaron que todas las variables seguían una distribución normal.

Una vez comprobada la normalidad de las variables, se realizaron los cálculos de los intervalos de confianza de las medias al 95% para comprobar con una seguridad del 95% en que intervalo se situaría la media poblacional; todos ellos resultaron ser significativos a excepción del área de hueso inmaduro y del área de hueso lamelar, debido a que en estas dos variables sólo se contaba con dos datos de medición. Los resultados del cálculo de los intervalos de confianza se presentan en la tabla 10.

TABLA 10. INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA MEDIA AL 95%			
Variable	Límite superior del intervalo	Límite inferior del intervalo	Significación estadística
Área de hueso neoformado	29,95	10,35	Significativo
Área de hueso inmaduro	169,11	-128,97	No significativo
Área de hueso viejo	19,06	4,91	Significativo
Área de biomaterial	18,23	4,58	Significativo
Área de hueso lamelar	30,04	-21,92	No significativo
Índice de contacto hueso-implante	46,12	18,49	Significativo
Volumen remanente	46,20	17,76	Significativo
Relación hueso inmaduro-hueso maduro	63,69	21,56	Significativo

Una vez hecho esto, se calculó el coeficiente de correlación simple de Pearson para comprobar la relación entre sí de las variables histomorfométricas, así como con el tiempo de cicatrización y la edad. Se excluyeron del análisis el área de hueso inmaduro y el área de hueso lamelar por ser variables que contaban únicamente con dos datos cada una. En este análisis se encontró una correlación positiva entre el volumen remanente y el área de biomaterial, con un p-valor de 0,0056, y una correlación positiva entre el área de hueso viejo y la relación hueso inmaduro-hueso maduro, con un p-valor de 0,015, que es estadísticamente significativo. Los datos se muestran en la tabla 11.

Durante el análisis de los datos, se comprobó que, si bien el tiempo de cicatrización establecido para el estudio fue de seis meses, las circunstancias particulares de cada paciente hicieron acortar o alargar ligeramente esos tiempos, teniendo así tiempos de curación de entre 5 y 8 meses. Por ello, se decidió realizar un

análisis de la varianza para contraste de medias y así comprobar si los valores medios de las variables área de hueso neoformado, área de biomaterial e índice de contacto hueso-implante eran diferentes según el tiempo de cicatrización transcurrido. El análisis estadístico no detectó evidencia de que existiese diferencia estadísticamente significativa alguna entre las medias de estas tres variables para los diferentes tiempos de cicatrización. Estos datos se recogen en la tabla 12.

TABLA 11. COEFICIENTE DE CORRELACIÓN SIMPLE DE PEARSON								
	AHN	AHV	AB	ICHI	VR	RHIHM	TC	EDAD
AHN		+	-	+	-	-	-	-
		p=0,83	p=0,63	p=0,26	p=0,28	p=0,19	p=0,13	p=0,52
AHV	+		-	-	-	+	-	-
	p=0,83		p=0,67	p=0,14	p=0,17	p=0,015	p=0,96	p=0,97
AB	-	-		-	+	-	-	-
	p=0,63	p=0,67		p=0,11	p=0,0056	p=0,30	p=0,53	p=0,41
ICHI	+	-	-		-	-	-	-
	p=0,26	p=0,14	p=0,11		p=0,74	p=0,44	p=0,94	p=0,73
VR	-	-	+	-		-	+	-
	p=0,28	p=0,17	p=0,0056	p=0,74		p=0,29	p=0,78	p=0,50
RHIHM	-	+	-	-	-		-	+
	p=0,19	p=0,015	p=0,30	p=0,44	p=0,29		p=0,98	p=0,18
TC	-	-	-	-	+	+		+
	p=0,13	p=0,96	p=0,53	p=0,94	p=0,78	p=0,98		p=0,013
EDAD	-	-	-	-	-	+	+	
	p=0,52	p=0,97	p=0,41	p=0,73	p=0,50	p=0,18	p=0,013	
+: Correlación positiva -: Correlación negativa AHN: Área de hueso neoformado; AHV: Área de hueso viejo; AB: Área de biomaterial; ICHI: Índice de contacto hueso-implante; VR: Volumen remanente; RHIHM: Relación hueso inmaduro-hueso maduro; TC: Tiempo de cicatrización.								

TABLA 12. ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
	5 meses	6 meses	7 meses	8 meses	Diferencias
Media de Área de hueso neoformado	20,37	28,61	23,84	4,62	NS p=0,20
Media de Área de biomaterial	16,21	7,95	-	10,06	NS p=0,56
Media de Índice de contacto hueso-implante	27,47	34,74	43,87	26,80	NS p=0,92

A continuación se realizó un test de la t de Student para comparar las medias de las variables área de hueso neoformado, área de biomaterial e índice de contacto hueso-implante en los pacientes en los que habían transcurrido 5 y 6 meses de curación, y los pacientes en los que habían transcurrido 7 y 8 meses de curación. En ninguna de las tres variables se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos. Estos datos se recogen en la tabla 13.

TABLA 13. TEST DE LA T DE STUDENT				
	5-6 meses	7-8 meses	Valor t	p-valor
Media de Área de hueso neoformado	25,51	9,42	1,89	0,08
Media de Área de biomaterial	12,08	10,06	0,30	0,77
Media de Índice de contacto hueso-implante	32,76	31,07	0,11	0,91

5. DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

Cuando se realiza una exodoncia, tiene lugar una pérdida de hueso en ese lugar, con una disminución del 40-60% en altura y anchura en unos 2-3 años, seguida de una pérdida del 0,5-1% por año. La preservación de la cresta alveolar es una herramienta importante para prevenir la pérdida de hueso (Palti 2002). Otros autores observan que en los primeros 12 meses se pierde un 50% en sentido horizontal y vertical, ocurriendo 2/3 de la reabsorción en los primeros 3 meses; y esto se acelera si un proceso patológico ha dañado alguna pared alveolar. Si se realiza preservación alveolar, el coágulo se estabiliza y se evita la pérdida de tejido duro, además se coloca un armazón sobre el que crezcan componentes celulares y vasculares que formen hueso nuevo (Brkovic 2008). Por ello, en este estudio se decidió utilizar el biomaterial osteoconductor β -fosfato tricálcico para esta indicación, una vez que parece probada su eficacia especialmente en las elevaciones sinusales.

El β -fosfato tricálcico es un material biocompatible, reabsorbible y osteoconductor, que permite a las células osteoprogenitoras crecer en su superficie o en sus porosidades y diferenciarse a osteoblastos, conllevando un depósito de hueso (Zerbo 2005). Esta cerámica es un sustituto óseo temporal que se reabsorbe en 12-24 meses y es reemplazado por hueso vital similar funcional y anatómicamente al original (Simunek 2008, Szabó 2001, Velasco-Ortega 2007).

El β -fosfato tricálcico se encuentra en dos formas, la fase α (producida a más de 1125 grados) y la fase β (producida a menos de 1125 grados) (Horch 2006). La fase β es más recomendable porque es más estable termodinámicamente y se degrada más rápidamente, no siendo detectable al cabo de los años (Horch 2006, Palti 2002).

Las partículas de β -fosfato tricálcico son osteoconductoras, y cuando se implantan en el organismo, comienza una migración de células osteogénicas desde el hueso residual hacia las partículas. Esto podría estar estimulado por los componentes del coágulo sanguíneo en formación. Los coágulos sanguíneos se componen en gran parte de fibrina, pero también de fibronectina y glicoproteínas adhesivas que conectan los receptores de integrinas de las membranas celulares con las moléculas de la matriz extracelular vía Asp-Gly-Arg-(RGD), y guían la migración celular. El estímulo específico para la diferenciación osteoblástica no se conoce, y posiblemente es multifactorial. La degradación del propio β -fosfato tricálcico podría contribuir, ya que hay autores que han señalado que un aumento local en los iones calcio y fosfato estimulan la diferenciación osteoblástica (Zerbo 2005).

El grado de regeneración ósea provocada por el β -fosfato tricálcico varía dependiendo de su formulación, estructura química, porosidad y el tamaño y forma de las partículas (Palti 2002, Velasco-Ortega 2007). La pureza del material debe ser al menos del 99% para evitar una respuesta biológica desfavorable. Una mayor porosidad favorece su reabsorción y es esencial para la perfusión ya que los vasos sanguíneos y el tejido óseo neoformado necesitan poros mínimos de 60 μm para desarrollarse, siendo el tamaño ideal, según autores como Martínez et al, de 300 μm . Estas macroporosidades, en materiales particulados vienen dadas por el empaquetamiento de las partículas dentro del defecto, y por tanto, dependen de la forma de las mismas. El tamaño de las partículas también es importante ya que se ha demostrado que un menor tamaño provoca una menor reacción inflamatoria a cuerpo extraño (Velasco-Ortega 2007, Martínez 2010). A este respecto, cabe destacar el estudio de Martínez y cols (Martínez 2010), en el que realizaron una caracterización de la superficie muy

exhaustiva del β -fosfato tricálcico KeraOs® (Keramat, A Coruña, España), que es el utilizado en este trabajo. La caracterización se llevó a cabo mediante SEM (Scanning Electron Microscopy), XRD (difracción de rayos X), DTA-TG (análisis diferencial térmico y gravimétrico), BET (área de superficie específica con el método de Brunauer, Emmett y Teller) y porosimetría con mercurio. Se determinó el ratio molar Ca/P mediante análisis cuantitativo de la difracción de rayos X. Los resultados encontrados fueron un BET de 0.37 m/g, una porosidad del 17,8%, un tamaño medio de poro de 1,09 μm , una pérdida de peso a 1000°C del 0,1%, un ratio molar Ca/P de 1,5 y un empaquetamiento efectivo del 50,1%. La figura 34 muestra las imágenes tomadas mediante SEM del material particulado inicial; en la parte superior de la imagen se observan agregados de partículas con forma globular, que dejan espacios entre ellos dando lugar a la formación de poros. En la parte inferior se muestran las microporosidades del material, derivadas del hecho de que las partículas están formadas por gránulos sinterizados del tamaño de micrones.

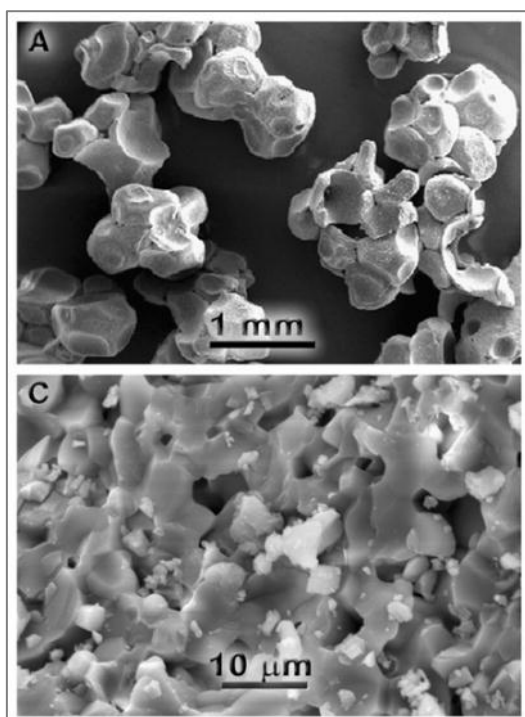


Figura 34. Imágenes tomadas con SEM del β -fosfato tricálcico. En la imagen superior se aprecia la forma globular de los agregados de partículas. En la imagen inferior se observan las microporosidades del material. Tomada de Martínez et al 2010.

Los resultados del presente trabajo han mostrado una curación sin complicaciones y unos buenos resultados clínicos, con un 100% de implantes colocados en las zonas aumentadas con buena estabilidad primaria; a nivel histológico se observó actividad de neoformación ósea, acompañada de la presencia de osteocitos y hueso inmaduro. A diferencia de lo que señalan otros autores (Brkovic 2011), sí se encontró crecimiento de tejido fibroso en varias biopsias, lo que podría minimizarse con la colocación de una membrana.

El histograma de frecuencias correspondiente a la variable índice de contacto hueso-implante señala que en 8 de las 15 biopsias, éste fue inferior al 20%, y el histograma de frecuencias de la variable área de hueso neoformado señala que en la mayoría de las biopsias ésta fue inferior al 20%, aunque en dos de ellas se superó el 40%. Por otro lado, se comprueba que el biomaterial es reabsorbible, dado que el histograma de la variable área de biomaterial muestra que en la mayoría de las biopsias es inferior al 20%. La variable área de hueso inmaduro sólo se pudo valorar en dos biopsias, siendo en una de ellas menor del 20% y en la otra cercana al 40%. El histograma de la variable área de hueso viejo muestra que la mayoría de las biopsias se sitúan en la franja entre el 0 y el 20%, igual que ocurre en el histograma de la variable área de biomaterial. La variable área de hueso lamelar sólo se pudo medir en dos biopsias, y en ambas el resultado es menor del 10%. En cuanto a la variable volumen remanente, los resultados varían entre el 0 y prácticamente el 100%, aunque en 13 de las 15 biopsias el resultado es menor del 50%. Por último la variable relación hueso inmaduro-hueso maduro también varía entre el 0 y el 100%, y los datos están distribuidos entre estos dos valores de modo homogéneo, aunque en la franja donde hay más casos según muestra el histograma de frecuencias es en la que abarca desde

el 0 al 20%.

Los cálculos de los intervalos de confianza, dieron como resultado intervalos significativos con una seguridad del 95% en todas las variables excepto en las de hueso inmaduro y hueso lamelar, debido a los pocos datos disponibles. La prueba del coeficiente de correlación de Pearson señaló que existía una correlación positiva entre el área de biomaterial y el volumen remanente, así como entre el área de hueso viejo y la relación hueso maduro / hueso inmaduro.

Existen pocos estudios que hayan utilizado el β -fosfato tricálcico tras la extracción dentaria para preservar las dimensiones del alveolo dentario (Brkovic 2008, Brkovic 2011, Horowitz 2009, Ormianer 2006); y existe poca información relativa al proceso de incorporación de este material en el tejido óseo del alveolo durante su curación. Respecto a este último punto, Araújo y cols (Araújo 2010) realizaron un estudio que analizó la influencia del β -fosfato tricálcico en la formación tisular durante la curación de alveolos post-extracción en perros beagle. El análisis fue tanto histológico, histomorfométrico como inmunohistoquímico y llegaron a la siguiente conclusión: la curación temprana de un alveolo dentario que se haya rellenado con β -fosfato tricálcico implica la formación de un coágulo, que es reemplazado por tejido de granulación y una matriz provisional en la cual puede formarse el hueso esponjoso. El biomaterial parece implicado en este proceso. Así, en varios intervalos de curación, las superficies de las partículas del material fueron ocupadas por células multinucleadas grandes y activas que probablemente retiraban iones calcio y fosfato de los gránulos pequeños del material. Además, las porosidades del β -fosfato tricálcico fueron ocupadas inicialmente por eritrocitos, que posteriormente fueron reemplazados por

tejido mesenquimal y finalmente por tejido óseo. Parte del injerto aparecía invadido por células inflamatorias y mesenquimales y se encontraban pequeños gránulos del material en el tejido de granulación y la matriz provisional. Se encontraron osteoclastos aposicionados o muy próximos a agregados de estos gránulos. En el proceso de la formación del tejido duro, aparecieron partículas parcialmente mineralizadas de β -fosfato tricálcico rodeadas por puentes de hueso esponjoso.

Los estudios clínicos en humanos requieren el uso de técnicas no invasivas, como la radiología. Nolff y cols (Nolff 2010) intentaron establecer si la tomografía computarizada convencional era un buen método para evaluar la osificación y degradación del β -fosfato tricálcico in vivo, llegando a la conclusión de que no es una herramienta útil en este caso. Recientemente, Kühl y cols (Kühl 2010) realizaron un estudio piloto para valorar si se puede evaluar un injerto de β -fosfato tricálcico tras la elevación del suelo del seno maxilar mediante tomografía microcomputarizada. El resultado parece prometedor, ya que se pueden identificar el hueso, el sustituto, el volumen total de hueso, el volumen del sustituto, el grosor de las trabéculas y los espacios entre ellas, con la ventaja de ser una técnica no invasiva. Sin embargo, probablemente, hoy por hoy, la forma más efectiva de valorar la regeneración, calidad y cantidad ósea es la toma de una biopsia. Un enfoque útil es el tratamiento en dos fases, en la que el primer paso es la inserción del injerto, y la segunda la colocación de los implantes, lo que nos da lugar a poder obtener una muestra histológica (Suba 2006). Esta técnica en dos fases es la utilizada en este estudio y en la mayoría de los estudios que realizan elevaciones sinusales. Además, se ha señalado que los resultados histológicos pueden predecir la capacidad de carga que va a tener ese hueso, y ponen de manifiesto los puntos más débiles a la hora de planificar los implantes y la prótesis

(Suba 2006).

Se han realizado algunos estudios sobre preservación alveolar utilizando β -fosfato tricálcico (Brkovic 2008, Brkovic 2011, Horowitz 2009, Ormianer 2006). Brkovic et al, en 2008, presentaron un caso de un paciente tratado con β -fosfato tricálcico y colágeno tipo I para preservación alveolar previo a la colocación de implantes. No se colocó membrana ni colgajo mucoperióstico para cubrir el alveolo. Se tomó una biopsia a los 9 meses y se tomaron radiografías a la semana, y a los 4 y 9 meses. Se observó una buena curación sin complicaciones, aunque al medir la cresta alveolar al colocar el implante, se observó una ligera disminución horizontal. No se encontraron partículas visibles el día del implante. En los cortes histológicos se observaba gran actividad de neoformación ósea, lagunas con osteoblastos activos y en algunas áreas había hueso nuevo junto a partículas del material. No había colágeno residual en contacto con las partículas, tejido inflamatorio, ni fibroso. El 16,3% del volumen de la biopsia era de hueso residual. Estos datos muestran que el material es osteoconductor (Brkovic 2008).

Horowitz y cols (Horowitz 2009) realizaron un estudio similar al aquí propuesto, en el que utilizaron β -fosfato tricálcico mezclado con sangre del paciente y una membrana de colágeno o PTFE para preservación alveolar tras la extracción dentaria y previa a la colocación de implantes dentales. El trabajo se llevó a cabo con 30 pacientes y un tiempo de curación medio de 6 meses. Analizaron los resultados clínicos, incluyendo las mediciones de la anchura de la cresta alveolar previa a la extracción y en la cirugía de colocación de los implantes, los resultados radiológicos, tomaron biopsias con trefina en la cirugía de colocación de los implantes y analizaron

los resultados histológicos y la histomorfometría en algunos casos. Los resultados clínicos fueron buenos, la histología mostraba hueso vital en los alveolos con una reabsorción del material en un alto porcentaje, se logró una estabilidad primaria de los implantes y una preservación de la anchura del alveolo dentario del 91% respecto a la medida antes de la extracción dentaria.

El estudio de Ormianer (Ormianer 2006) valoró los resultados de la carga inmediata de 1065 implantes insertados de modo simultáneo a la colocación del injerto en 338 pacientes edéntulos parciales donde se utilizó el β -fosfato tricálcico como biomaterial entre otras aplicaciones, para alveolos postextracción. Después de una media de 19,2 meses, la supervivencia de los implantes fue del 97,6% (Ormianer 2006).

Brkovic y cols (Brkovic 2011) compararon dos grupos de pacientes en los que se llevó a cabo la técnica de preservación alveolar previa a la colocación de implantes dentales, utilizando conos de β -fosfato tricálcico mezclado con colágeno tipo I y sin cierre de tejido blando en un grupo y con una membrana reabsorbible de colágeno y colgajo mucoperióstico para el cierre del tejido blando en el otro grupo. Tras un tiempo de cicatrización de 9 meses realizaron estudio clínico, incluyendo medidas de la anchura previa y posterior del hueso alveolar, estudio histológico, histomorfométrico e inmunohistoquímico, encontrando buena curación ósea en ambos grupos, aunque se observó una mayor reducción de la anchura alveolar en el grupo sin membrana, y una mayor reducción en la cantidad de encía insertada en el grupo con membrana y colgajo.

La preservación alveolar se ha realizado con otros materiales, como los aloinjertos o la cerámica bifásica. Iasella y cols, en el año 2003 (Iasella 2003) realizaron un estudio clínico randomizado, controlado y cegado en el que compararon la pérdida de altura y anchura que se producía en el hueso alveolar 6 meses tras una extracción utilizando o sin utilizar preservación alveolar, colocado como material aloinjerto y una membrana de colágeno. Encontraron resultados significativamente mejores en el grupo en el que se realizó preservación alveolar, conservándose mejor la altura y anchura original, y hallando más hueso nuevo en las biopsias. Sin embargo, el estudio de De Coster (De Coster 2011), en el que se utilizó una cerámica bifásica sin membrana para preservación alveolar con un tiempo medio de curación de 22 semanas, arrojó unos resultados negativos, observándose una mala curación ósea, ineficaz y retardada en los alveolos tratados con la cerámica comparado con alveolos sin tratar en los mismos pacientes; esto obligó en muchos casos a posponer la colocación de los implantes planeados

También se ha utilizado el β -fosfato tricálcico para otras aplicaciones, especialmente la elevación del suelo del seno maxilar (Aguirre-Zorzano 2007, Horch 2006, Palti 2002, Simunek 2008, Suba 2006, Szabó 2001, Szabó 2005, Velasco-Ortega 2007, Zerbo 2004, Zijderveld 2005).

Simunek et al, en el año 2008 realizaron un estudio con 48 elevaciones sinusales en dos fases, utilizando como materiales de injerto β -fosfato tricálcico, hueso bovino desproteinizado, hueso autógeno, y combinaciones de los mismos. El análisis histológico a los 9 meses mostró signos de buena regeneración ósea. En las biopsias en las que se había usado β -fosfato tricálcico aislado se veían áreas redondeadas u

ovoides de gránulos que representan el material remanente. Se encontró tejido fibrótico e infiltrados inflamatorios crónicos. Se observó hueso nuevo en forma de trabéculas anchas adyacentes a las áreas del material de aumento y trabéculas lacunares entre los gránulos del material. No se encontraron reacciones granulomatosas a cuerpo extraño ni fibrosis (Simunek 2008).

En el año 2007, Aguirre-Zorzano et al realizaron elevaciones de seno en una fase en 22 pacientes, usando β -fosfato tricálcico mezclado con hueso autógeno. Tomaron biopsias de 5 pacientes, y en ellas observaron un hueso trabecular maduro, trabéculas que mostraban abundantes lagunas con osteocitos en su interior y escasos signos de remodelación ósea, se reconocía material granular rodeado por tejido óseo y/o conectivo, sin inflamación ni reacciones a cuerpo extraño. Los resultados clínicos fueron buenos, sin complicaciones y con un 100% de éxito de los implantes (Aguirre-Zorzano 2007).

Velasco-Ortega et al realizaron un estudio en 2007, en el que usaron β -fosfato tricálcico en elevaciones de seno, implantes post-extracción, defectos óseos y rebordes alveolares atróficos. Los hallazgos clínicos indicaron una supervivencia y éxito de los implantes del 98,8%, sin complicaciones tardías a los 12 meses, indicando que el β -fosfato tricálcico puede ser utilizado con éxito como material de regeneración ósea en el tratamiento con implantes dentales (Velasco-Ortega 2007).

Horch et al, en el año 2006, trataron a 152 pacientes con defectos maxilares y mandibulares mediante regeneración ósea con β -fosfato tricálcico o β -fosfato tricálcico con hueso autógeno. Midieron variables clínicas y radiológicas y se tomaron 16 biopsias. En las biopsias se observó que el material se había reabsorbido casi

completamente en un año, y se vio crecimiento óseo con formación trabecular regular, similar a cuando se usa hueso autógeno. No ocurrieron reacciones a cuerpo extraño. Clínicamente se dieron algunas pérdidas parciales y totales del granulado, y radiográficamente al año se observaba una total reabsorción y sustitución por hueso (Horch 2006).

Suba et al, en el año 2006, realizaron un estudio sobre 17 pacientes en los que practicaron elevaciones de seno bilaterales, colocando β -fosfato tricálcico en un lado y hueso autógeno en el otro. La histología a los seis meses en el lado del β -fosfato tricálcico reveló la presencia de partículas remanentes y nuevas trabéculas de hueso. Las partículas parcialmente reabsorbidas no sólo estaban en contacto con el hueso nuevo, sino que se observaban osteoide o hueso esponjoso en sus poros. No había signos de actividad osteoclástica en el interior de los gránulos, pero se observaban remanentes del injerto en el citoplasma de los macrófagos, lo que sugiere una eliminación celular activa del material. A los 6 meses el hueso nuevo, principalmente laminar se observaba claramente. En un caso se dio una reacción inflamatoria sin formación de hueso nuevo (Suba 2006).

Szabó et al (Szabó 2005) trataron a 20 pacientes mediante elevación de seno bilateral y colocación de implantes seis meses después, utilizando β -fosfato tricálcico en un lado y hueso autógeno en el otro. En los cortes histológicos observaron que los gránulos del biomaterial se veían parcialmente embebidos en hueso nuevo, predominantemente laminar. La formación ósea se precedía de una proliferación de un mesénquima rico en células osteogénicas y una red capilar en los poros de los gránulos. El hueso nuevo reemplaza de forma continua a las partículas, depositándose

en la superficie del material y en los poros. No se observaron reacciones a cuerpo extraño, pero hubo una reacción inflamatoria sin formación ósea. Concluyeron que la producción de hueso es similar al hueso autógeno, por lo que el material podría usarse, incluso aisladamente.

Zijderveld et al, en el año 2005, (Zijderveld 2005) trataron un grupo de seis pacientes mediante elevación de seno bilateral y otro grupo de cuatro pacientes mediante elevación de seno unilateral y colocación de implantes seis meses después. Colocaron β -fosfato tricálcico en un lado y hueso autógeno en el otro. A los seis meses, el hueso residual y el nuevo son predominantemente laminares, el porcentaje de hueso es similar en ambos lados y la formación de hueso es evidente, sobre todo esponjoso, y sobre todo más cerca del área de hueso residual, lo que indica osteoconducción. En esa área las partículas estaban casi totalmente reemplazadas por hueso pero no se veía una completa reabsorción del β -fosfato tricálcico. El volumen de hueso era mayor en el lado del hueso autógeno, pero la altura de hueso conseguida era buena en ambos lados.

En el año 2004, Zerbo et al (Zerbo 2004) realizaron elevaciones de seno bilaterales en dos fases, utilizando β -fosfato tricálcico en un lado y hueso autógeno en el otro en nueve pacientes. A los seis meses, en las biopsias del lado aumentado con β -fosfato tricálcico el hueso residual era similar al lado contralateral, predominantemente laminar y con poca reabsorción. Las partículas estaban siendo reabsorbidas y sustituidas por hueso, sobre todo las más cercanas al hueso residual, y disminuyendo esta reabsorción hacia apical. La formación ósea se da sobre todo alrededor de las partículas y entre ellas, pero en pocas ocasiones en el interior de ellas.

Las partículas más apicales se rodeaban de células indiferenciadas, vasos sanguíneos y tejido fibroso. No se observaron reacciones a cuerpo extraño ni reacciones inflamatorias. Todo esto indica que el material es oteoconductor y que sigue un proceso lento en el que la formación ósea tiene lugar en una dirección, desde el hueso residual hacia el material, aproximadamente 5 mm al mes.

Palti et al, en el 2002, (Palti 2002) trataron a 267 pacientes con defectos óseos con β -fosfato tricálcico, incluyendo defectos periodontales, defectos producidos por apicectomías y quistectomías, elevación de seno y aumento de la cresta. En estos lugares aumentados colocaron 492 implantes, obteniendo una tasa de éxito del 97,8%.

Szabó et al (Szabó 2001) estudiaron la regeneración ósea producida en cuatro pacientes en los que se realizaron elevaciones sinusales bilaterales en dos fases, colocando hueso autógeno en un lado y β -fosfato tricálcico en el otro. A los seis meses, en las biopsias del lado del β -fosfato tricálcico se encontraron gránulos remanentes, englobados en hueso nuevo, tejido osteoide y tejido blando en varias proporciones. La forma de los gránulos era diferente debido a la diferente reabsorción sufrida. El tejido óseo era predominantemente laminar, viéndose aposición ósea en la superficie de los gránulos parcialmente reabsorbidos. Entre los gránulos se observaba tejido conectivo y angiogénesis precediendo la formación de hueso. No hubo reacciones inflamatorias ni a cuerpo extraño. Clínica y radiográficamente la evolución fue correcta.

Los datos más relevantes de estos estudios se recogen en la tabla 14.

TABLA 14. COMPARATIVA DE ESTUDIOS REALIZADOS CON β -TCP

Autor y año	Material / es	Técnica	Tipo de variables	Tiempo	Conclusiones
Szabó 2001	TCP / H.A	El. Seno	CL, RX, Hist	6 meses	Buenos resultados.
Palti 2002	TCP	Varias	CL	-	97,8% éxito implantes
Zerbo 2004	TCP / H.A	El. Seno	Hist	6 meses	Buen resultado. OC.
Zijdeveld 2005	TCP / H.A	El. Seno	Hist	6 meses	Buena regeneración.
Szabó 2005	TCP / H.A	El. Seno	CL, Hist	6 meses	Buena regeneración.
Ormianer 2006	TCP	Varias	CL	19,2 meses	97,6% éxito implantes.
Suba 2006	TCP / H.A	El. Seno	CL, Hist	6 meses	Buena regeneración.
Horch 2006	TCP /TCP+H.A	Defectos óseos	CL, RX, Hist	12 meses	Buenos resultados.
Aguirre 2007	TCP + H.A	El. Seno	CL, Hist	6-11 meses	Buen resultado.
Velasco 2007	TCP	Varias	CL	-	98,8% éxito implantes
Simunek 2008	TCP, bovino, H.A	El. Seno	CL, Hist	9 meses	Buena regeneración.
Brkovic 2008	TCP + colágeno	P. Alveolar	CL, RX, Hist	9 meses	Buen resultado. OC.
Horowitz 2009	TCP	P. alveolar	CL, Rx, Hist	6 meses	Buen resultado.
Brkovic 2011	TCP+colágeno	P. alveolar	CL, Hist, Inmunohisto-química	9 meses	Buena curación ósea. Mayor reabsorción sin membrana
LEYENDA: TCP: Fosfato tricálcico; H.A: hueso autógeno; CL: clínicas; RX: radiológicas; Hist: histológicas; OC: osteoconducción					

En el presente estudio, se ha utilizado el β -fosfato tricálcico aislado mezclado con suero salino o sangre del paciente, del mismo modo que realizaron Horowitz y cols en su trabajo (Horowitz 2009) o De Coster y cols en el suyo (De Coster 2011) . Walsh y cols (Walsh 2008) ya habían señalado que el manejo de este material en forma de granulado es difícil, y más, cuanto más poroso es el mismo, por lo que mezclarlo con

sangre del paciente es un modo de facilitar el manejo clínico.

Hay muchos autores que recomiendan la mezcla de los biomateriales con hueso autógeno, ya que parece que se obtienen mejores resultados y una mayor rapidez (Szabó 2005, Zerbo 2004). Sin embargo, hay otros autores que han mostrado que la mezcla de β -fosfato tricálcico con un 10-20% de hueso autógeno no obtiene mejores resultados que el β -fosfato tricálcico aislado (Simunek 2008).

Otros autores señalan que la regeneración con este material podría ser acelerada utilizando componentes como el plasma rico en plaquetas u otras sustancias osteoinductoras (Szabó 2001). Respecto al plasma rico en plaquetas, Nikolidakis y cols (Nikolidakis 2008) no observaron una mejora de los resultados utilizando β -fosfato tricálcico combinado con plasma rico en plaquetas obtenido a partir de sangre de un donante para la elevación del suelo del seno maxilar y posterior colocación de implantes, comparándolo con la utilización de β -fosfato tricálcico aislado. Velich y cols (Velich 2004) mezclaron el material con concentrado de plaquetas, y encontraron que el remodelado óseo es más rápido con la combinación que con el material aislado, aunque los resultados fueron buenos en ambos casos. McAllister y cols (McAllister 2010) utilizaron factor de crecimiento derivado de plaquetas recombinante humano combinado con β -fosfato tricálcico para el relleno de alveolos post-extracción. La histología a los tres meses reveló un 21-24% de hueso vital, con un 100% de éxito de los implantes colocados a posteriori. Jayakumar y cols (Jayakumar 2011) utilizaron esta misma combinación en un estudio multicéntrico randomizado a doble ciego para el relleno de defectos periodontales intraóseos, encontrando que el resultado mejoraba la utilización del β -fosfato tricálcico aislado, aumentando tanto la formación ósea

como la curación de los tejidos blandos. Por el contrario, Murai y cols (Murai 2005) encontraron que los derivados de la matriz del esmalte no mejoraban la formación ósea al añadirlos al β -fosfato tricálcico en defectos en la calota de conejos; y Schwartz y cols (Schwartz 2007) no encontraron buenos resultados al combinar β -fosfato tricálcico con hueso alogénico para elevaciones del suelo sinusal. Hirota y cols (Hirota 2009) comprobaron que la reabsorción inicial (1-5 semanas) del β -fosfato tricálcico en ratas se ralentiza al combinarlo con hueso alogénico, lo que sería beneficioso cuando el material se usa como vehículo para una sustancia osteogénica.

En cuanto a la densidad radiográfica, en este estudio se observó que el biomaterial era mucho más denso que el hueso adyacente, por lo que este es fácilmente identificable. Este mismo hecho señalaron Von Doernberg y cols en su trabajo del año 2006 (Von Doernberg 2006). Esto facilita que, en un material reabsorbible, se pueda seguir radiográficamente la curación, ya que la radioopacidad del material va cambiando según se va reabsorbiendo y va siendo sustituido por hueso nuevo, dando lugar a una imagen radiológica de hueso normal trabecular.

En todos los estudios que han comparado el β -fosfato tricálcico con el hueso autógeno se han mostrado diferencias radiográficas e histológicas, pero no así en los resultados clínicos y en la actividad de formación ósea, que son buenos con ambos materiales. Radiográficamente se observa que la densidad del hueso autógeno aumenta con el tiempo, mientras que la del β -fosfato tricálcico disminuye debido a su gran radioopacidad, que va disminuyendo al ser sustituido por hueso nuevo (Szabó 2001, Szabó 2005, Zijderfeld 2005). Por este motivo, se sigue mejor la integración del injerto radiográficamente con el β -fosfato tricálcico que con el hueso autógeno (Szabó

2001). Lo que permanece claro es que el β -fosfato tricálcico sólo tiene capacidad osteoinductora, mientras que el hueso autógeno es osteogénico, osteoinductor y osteoconductor, presentando una formación de hueso más rápida y mayor en densidad que el biomaterial (Suba 2006, Velasco-Ortega 2007, Zerbo 2004). Esta mayor densidad y maduración podría ser igualada por el β -fosfato tricálcico en tiempos de curación mayores (Zerbo 2004).

Zerbo et al, en el año 2005, (Zerbo 2005) tras su estudio preliminar del 2004 en el que se observó que tras seis meses de curación, se formaba menos hueso en los senos aumentados con β -fosfato tricálcico que en los aumentados con hueso autógeno, vieron que el hueso había reemplazado las partículas de β -fosfato tricálcico en las áreas inmediatamente apicales al hueso residual. Sin embargo, lejos del hueso original, se observaban áreas de sustituto óseo sin matriz ósea, pero conteniendo un tejido conectivo blando en crecimiento con muchas células con capacidad incierta. En el estudio del 2005 trataron de establecer la capacidad osteogénica de esas células. Para analizar las células con potencial osteogénico, se usaron anticuerpos para Runx2 o el factor de unión core alfa 1 (Cbfa-1). Para identificar células de la línea osteoblástica se usaron anticuerpos contra osteopontina y sialoproteína ósea. Sus resultados muestran que las células del tejido conectivo blando halladas alrededor y dentro del material eran osteogénicas y estaban siguiendo el camino de la diferenciación osteoblástica.

Uckan y cols (Uckan 2010) realizaron en un grupo de pacientes, elevaciones de seno con β -fosfato tricálcico y colocación de 121 implantes de forma simultánea a la elevación sinusal; y los compararon con otro grupo de pacientes en los que se

colocaron 136 implantes en la misma zona sin necesidad de elevación de seno. El seguimiento fue de 30 meses, y los resultados en ambos grupos fueron iguales, perdiéndose un implante en cada grupo; lo que indica que la técnica es efectiva e igual de predecible que la colocación de implantes sin realizar injerto óseo.

Para valorar los resultados a largo plazo, Zijderveld et al (Zijderveld 2009), realizaron el seguimiento de 20 elevaciones de seno, realizadas en un grupo con β -fosfato tricálcico y en otro con hueso autógeno durante 4,5 años, y midieron la pérdida de altura ósea. Los resultados fueron iguales con ambos materiales, siendo mínimo el cambio tras el primer año y medio, lo que también habla a favor de la predictibilidad de la técnica utilizando este material.

Se ha señalado que la velocidad de curación y formación de hueso nuevo no es igual en todos los pacientes, influyendo tanto factores generales individuales del paciente, factores vasculares, factores locales como el tamaño del defecto y el sitio del injerto y el potencial osteogénico individual (Horch 2006, Szabó 2001).

En esta línea, otro tema discutido es el tiempo que se debe dejar cicatrizar esta cerámica una vez colocada en el defecto para poder colocar implantes dentales con éxito en la zona. En el presente estudio, como en la mayoría de los estudios que utilizan el β -fosfato tricálcico en implantología oral, se ha considerado que se puede utilizar como un buen periodo de cicatrización ósea el de 6 meses, cuando la mayor parte de la cerámica se ha reabsorbido; es decir una vez que el tejido injertado puede ser suficientemente estable para la carga funcional de los implantes (Horch 2006, Horowitz 2009, Velasco-Ortega 2007). El estudio de Wiltfang y cols (Wiltfang 2002) realizado en cerdos, pone de manifiesto que la degradación del β -fosfato tricálcico es

lenta; en su estudio, a las 28 semanas se había reabsorbido el 80% del material, y a las 86 semanas el 97%, por lo que recomendaron esperar 5 ó 6 meses para la colocación de implantes en las zonas injertadas y no hacerlo de modo simultáneo porque la respuesta celular podría dañar la osteointegración de los implantes. Sin embargo hay autores que sugieren que alargar este periodo de curación podría ser beneficioso y aumentaría la estabilidad de los implantes (Zijderveld 2005), y que la presencia de partículas residuales a los 9 meses ya no compromete la colocación de los mismos (Brkovic 2008). En el extremo contrario, hay investigadores que postulan una colocación inmediata de los implantes en las zonas aumentadas, seguida de una carga inmediata de estos implantes; de hecho en el estudio de Ormianer y cols, se colocaron 1065 implantes con este procedimiento, logrando una tasa de éxito del 97% (Ormianer 2006). A este respecto, y dado que en este trabajo hubo pacientes con tiempos de cicatrización comprendidos entre los 5 y los 8 meses, se intentó comprobar si existían diferencias en las variables histomorfométricas según los tiempos de cicatrización. Ni el análisis de la varianza ni el test de la t de Student mostraron diferencias estadísticamente significativas; probablemente debido al reducido tamaño de la muestra empleada.

También se estudia el mecanismo por el cual se degrada el β -fosfato tricálcico previo a su sustitución por hueso, pues es un tema no aclarado en la actualidad (Martínez 2010). Wiltfang y cols (Wiltfang 2002) sugirieron que la degradación tiene lugar mediante una hidrólisis química llamada halisteresis y mediante células fagocíticas (células gigantes multinucleadas). Actualmente, también se piensa que esto tiene lugar por dos vías: reabsorción mediada por osteoclastos o por disolución en el fluido intersticial (Brkovic 2008, Zerbo 2005). En un estudio realizado en 2005, se

intentó detectar si había actividad osteoclástica en biopsias de senos aumentados con este biomaterial; para ello se usó un marcador citoplasmático presente en los osteoclastos, la fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP) (Zerbo 2005). Se comprobó que existía gran cantidad de células diferenciándose hacia osteoblastos, pero no osteoclastos. Es posible que la actividad metabólica de los osteoblastos produzca productos de degradación ácidos que causen la disolución química del β -fosfato tricálcico. Esto, unido a la pobre vascularización incipiente, causaría un descenso del pH, que promovería la disolución del β -fosfato tricálcico. Ello no excluye la participación de los osteoclastos, pero sugiere que podría ser más limitada (Zerbo 2005). Otros autores proponen que podría existir, además de estos dos mecanismos, la reabsorción mediada por otras células diferentes de los osteoclastos (Suba 2006). Sin embargo, Martínez y cols (Martínez 2010) sugieren que los osteoclastos o las células macrofágicas podrían no tener un papel importante en el proceso de reabsorción de esta cerámica, ya que encuentran en la interfase hueso-biomaterial células del sistema reticuloendotelial.

Una propuesta interesante es la que realizan en su trabajo Zerbo et al (2004), esto es, el marcaje del hueso nuevo mediante la administración de tetraciclinas orales a los pacientes, que se fijan al hueso en formación y que emiten fluorescencia al aplicarse sobre los cortes histológicos una luz de cierta longitud de onda (Zerbo 2004). La razón de este procedimiento es el poder diferenciar claramente el hueso neoformado del hueso residual del paciente para poder cuantificar la formación ósea que tiene lugar tras la utilización de un material de regeneración ósea. En este trabajo se utilizó una técnica compleja para poder procesar las muestras histológicas sin descalcificarlas, lo que permite diferenciar el hueso viejo, más mineralizado, del hueso

neoformado, que aún está en vías de mineralización. La técnica descrita para el procesamiento de las biopsias sin descalcificar el hueso mediante el sistema Exact permite la visualización del hueso inmaduro formado, y por tanto no calcificado y diferenciarlo del hueso viejo; esto es imprescindible en estudios como éste en el que se persigue conocer la evolución de la curación ósea. Son estas ventajas las que propiciaron la elección de este protocolo, pese a las desventajas que presenta; fundamentalmente la larga duración del proceso, la complejidad que presenta (en este estudio se perdieron tres biopsias en el proceso de pulido de las muestras), la pequeña cantidad de láminas delgadas que pueden obtenerse de una biopsia (en este caso en concreto, una) al no poder utilizarse un microtomo, y el hecho de no poder realizar tinciones inmunohistoquímicas posteriormente, ya que son incompatibles con la inclusión en resina. Esta técnica fue descrita por Donath, y autores como Brkovic y cols (Brkovic 2011) también la han utilizado en su trabajo sobre preservación alveolar utilizando β -fosfato tricálcico.

Uno de los problemas encontrados inicialmente en este estudio histológico fue la toma y procesamiento de las biopsias, así como su extracción de la trefina. De modo similar, Zerbo (Zerbo 2004) comenta que las biopsias de β -fosfato tricálcico eran difíciles de retirar en una sola pieza de la trefina y que el material era duro, frágil y con tendencia a romperse. Así mismo, Suba (Suba 2006) observa que es frecuente que las partículas del biomaterial se rompan durante la preparación de las muestras. Este problema se solventó durante el estudio cambiando el protocolo inicial, en el que se extraía la muestra de la trefina por el que se utilizó posteriormente, que implica el procesamiento de la muestra con la trefina como un bloque.

También se encontraron dificultades para localizar el sitio exacto de la toma de la biopsia en la cirugía de colocación de los implantes, hecho por el cual dos biopsias no pudieron ser utilizadas. En un estudio reciente, Brkovic y cols (Brkovic 2011) solventaron este problema utilizando las mismas guías quirúrgicas tanto para la colocación del injerto en el centro del alveolo como para la toma de la biopsia y la colocación del implante posteriormente, lo cual asegura que la toma de la biopsia se realizará del lugar correcto.

En este trabajo no se utilizó membrana para cubrir el biomaterial, aunque si se elevó un colgajo mucoperióstico para cubrir la herida como en el estudio de De Coster y cols (De Coster 2011), puesto que el material utilizado era granulado y no en forma de conos como el estudio de Brkovic y cols (Brkovic 2011), y por tanto era necesario retenerlo en el alveolo; pero sería interesante evaluar en posteriores estudios si el hecho de elevar un colgajo de espesor total trae apareada una disminución significativa en la cantidad de encía insertada y mayor reabsorción ósea; debido a las complicaciones que conllevan ambas situaciones. Según Brkovic y cols (Brkovic 2011), el hecho de elevar un colgajo mucoperióstico de la zona bucal del hueso alveolar compromete el aporte sanguíneo de esa zona, conllevando un aumento de la actividad osteoclástica y una mayor reabsorción ósea.

Finalmente, se puede afirmar que los resultados obtenidos están de acuerdo con los resultados histológicos y clínicos obtenidos por los diferentes autores en estudios similares, encontrándose una curación sin problemas, una estabilidad primaria de todos los implantes colocados, una gran radioopacidad del material y una adecuada sustitución a los seis meses de las partículas de β -fosfato tricálcico por hueso

neoformado, con la presencia de material residual en las muestras en contacto íntimo con el hueso nuevo.

Como líneas de investigación para el futuro, se pueden sugerir la realización de estudios con un mayor número de casos y que realicen mediciones de la anchura de la cresta alveolar al inicio y al final del mismo mediante calibre o mediante tomografías computarizadas, para poder así evaluar si la técnica de preservación alveolar es adecuada o no y poder medir el grado de reabsorción alveolar que se produce. Además, sería interesante la realización de estudios que combinaran el β -fosfato tricálcico con células, BMPs o factores de crecimiento, puesto que parece que el biomaterial tiene unas características que lo hacen un vehículo muy apropiado para este tipo de técnicas.

6. CONCLUSIONES


6. CONCLUSIONES

- Los resultados clínicos son satisfactorios, no habiendo ocurrido complicaciones en ningún caso. A nivel radiológico se observa una gran radioopacidad del biomaterial, sin alteraciones.
- El β -fosfato tricálcico colocado en el alveolo post-extracción provoca una respuesta del organismo del paciente, produciéndose un relleno óseo parcial del alveolo seis meses tras la realización de la extracción dentaria.
- El hueso formado a los seis meses en el alveolo tiene una maduración y mineralización adecuada al tiempo transcurrido, con presencia de actividad osteoblástica, lagunas óseas y osteocitos en su interior.
- El biomaterial no se reabsorbe completamente a los seis meses, encontrándose restos del mismo en contacto directo con el hueso neoformado o englobados en él, que van desapareciendo a la misma velocidad con la que aparece hueso neoformado.
- El contacto entre el hueso del paciente y las partículas de biomaterial presentes es íntimo como se muestra en los cortes histológicos, ya que no se aprecia una interfase entre ambos.

7. ANEXOS

7. ANEXOS

Anexo 1. Documento de toma de datos del paciente el día de la extracción dentaria.

UNIVERSIDAD: Protocolo nº de fecha Dr./Dra.:	Código del paciente: XXXXXXXXXXXXX
PACIENTE	
Apellidos y Nombre: Dirección: Localidad: Provincia: Teléfono: Sexo: <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> M Edad: Profesión: Hábitos tóxicos: <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SI: <input type="checkbox"/> Fumador <input type="checkbox"/> Bebedor <input type="checkbox"/> Otros	
PREOPERATORIO	
Tratamiento Previo: <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SI.- Especificar: Fotografías asociadas: <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SI.- Identificación:	
Radiografía/s asociada/s:	Pegar duplicado de la/s etiqueta/s identificadora/s de la/s radiografía/s
OPERATORIO	
Diente/s a extraer: Fecha exodoncia: Incidencias exodoncia: <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SI.- Especificar: Incidencias colgajo de reposición coronal: <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SI.- Especificar: Tipo de material de sutura: Incidencias sutura: <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SI.- Especificar: Exposición del alveolo: <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SI.- Comentario: Infección post-exodoncia: <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SI.- Comentario: Unidades KeraOs 0.25-1.00 mm utilizadas:	
	1 de 5

Proyecto: Evaluación de la eficacia clínica del biomaterial KeraOs®.- Formulario de recogida de datos.

Anexo 2. Documento de toma de datos del paciente a los 6 meses de la extracción.

REENTRADA	6 meses
<p>• Fecha:</p> <p>• Fotografías asociadas: <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SI.- Identificación:</p> <p>.....</p> <p>• Radiografía/s asociada/s: Pegar duplicado de la/s etiqueta/s identificadora/s de la/s radiografía/s</p> <p>• ¿Se ha detectado migración del producto? <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SI</p> <p>• Obtención de muestra/s con trefina:</p> <p style="margin-left: 40px;">Identificación:</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;"> <div style="border: 1px dashed gray; padding: 10px; width: 150px; text-align: center;">Pegar duplicado de la etiqueta identificadora de la muestra</div> <div style="border: 1px dashed gray; padding: 10px; width: 150px; text-align: center;">Pegar duplicado de la etiqueta identificadora de la muestra</div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;"> <div style="border: 1px dashed gray; padding: 10px; width: 150px; text-align: center;">Pegar duplicado de la etiqueta identificadora de la muestra</div> <div style="border: 1px dashed gray; padding: 10px; width: 150px; text-align: center;">Pegar duplicado de la etiqueta identificadora de la muestra</div> </div> <p>Incidencias:</p> <p>.....</p> <p>.....</p> <p>• Colocación de implantes:</p> <div style="border: 1px solid gray; padding: 10px; margin-top: 10px;"> <p>Implante 1: Torque de inserción: Nw/cm²</p> <p>Incidencias:</p> <p>.....</p> </div> <div style="border: 1px solid gray; padding: 10px; margin-top: 10px;"> <p>Implante 2: Torque de inserción: Nw/cm²</p> <p>Incidencias:</p> <p>.....</p> </div>	

Proyecto: Evaluación de la eficacia clínica del biomaterial KeraOs®.- Formulario de recogida de datos.

2 de 5

Implante 3: Torque de inserción: Nw/cm²
 Incidencias:

Implante 4: Torque de inserción: Nw/cm²
 Incidencias:

- Infección post-implante: ☐ NO ☐ SI.- Comentario:

- Pérdida del implante: ☐ NO ☐ SI.- Fecha: Comentario:

Valoración a los 6 meses:



Proyecto: Evaluación de la eficacia clínica del biomaterial KeraOs®.- Formulario de recogida de datos.

3 de 5

8. BIBLIOGRAFÍA

8. BIBLIOGRAFÍA

Alam S, Ueki K, Marukawa K, Ohara T, Hase T, Takazakura D, Nakagawa K. Expression of bone morphogenetic protein 2 and fibroblast growth factor 2 during bone regeneration using different implant materials as onlay bone graft in rabbit mandibles. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007;103:16-26.

Albee FH. Studies in bone growth: Triple Calcium Phosphate as a stimulus to osteogenesis. *Ann Surg.* 1920;71(1):32-9.

Allabouch A, Colat-Parros J, Salmon R, Naim S, Meunier JM. Biocompatibility of some materials used in dental implantology: histological study. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 1993;1:323-9.

Aguirre Zorzano LA, Rodríguez Tojo MJ, Aguirre Urizar JM. Maxillary sinus lift with intraoral autologous bone and B--tricalcium phosphate: histological and histomorphometric clinical study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2007;12(7):E532-6.

Allegrini S Jr, Koenig B Jr, Allegrini MR, Yoshimoto M, Gedrange T, Fanghaenel J, Lipski M. Alveolar ridge sockets preservation with bone grafting-review. *Ann Acad Med Stetin.* 2008;54(1):70-81.

Andrades JA. Osteoinducción y osteoconducción. *Encuentros en la biología* 1999;75. Edición para internet de la revista impresa. Disponible en: <http://www.encuentros.uma.es/encuentros57/osteo.html>

Araújo MG, Liljenberg B, Lindhe J. beta-Tricalcium phosphate in the early phase of socket healing: an experimental study in the dog. Clin Oral Implants Res. 2010;21(4):445-54.

Artzi Z, Weinreb M, Givol N, Rohrer MD, Nemcovsky CE, Prasad HS, Tal H. Biomaterial resorption rate and healing site morphology of inorganic bovine bone and beta-tricalcium phosphate in the canine: a 24-month longitudinal histologic study and morphometric analysis. Int J Oral Maxillofac Implants. 2004;19:357-68.

Aybar B, Bilir A, Akçakaya H, Ceyhan T. Effects of tricalcium phosphate bone graft materials on primary cultures of osteoblast cells *in vitro*. Clin Oral Impl Res. 2004;15(1):119-25.

Bascones Martínez A. Periodoncia clínica e implantología oral. 2ª ed. Avances. Madrid; 2001:655-65.

Bashoor-Zadeh M, Baroud G, Böhner M. Simulation of the *in vivo* resorption rate of β -tricalcium phosphate bone graft substitutes implanted in a sheep model. Biomaterials. 2011;32(27):6362-73.

Becker W. Treatment of small defects adjacent to oral implants with various biomaterials. Periodontology 2000. 2003;33:26-35.

Böhner M. Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements. Injury. 2000;31 Suppl 4:37-47.

Boix D, Weiss P, Gauthier O, Guicheux J, Bouler JM, Pilet P, Daculsi G, Grimandi G. Injectable bone substitute to preserve alveolar ridge resorption after tooth extraction :

a study in dog. J Mater Sci Mater Med. 2006;17:1145-52.

Brkovic BM, Prasad HS, Konandreas G, Milan R, Antunovic D, Sándor GK, Rohrer MD. Simple preservation of a maxillary extraction socket using beta-tricalcium phosphate with type I collagen: preliminary clinical and histomorphometric observations. J Can Dent Assoc. 2008;74(6):523-8.

Brkovic BM, Prasad HS, Rohrer MD, Konandreas G, Agrogiannis G, Antunovic D, Sándor GK. Beta-tricalcium phosphate/type I collagen cones with or without a barrier membrane in human extraction socket healing: clinical, histologic, histomorphometric, and immunohistochemical evaluation. Clin Oral Investig. 2011; doi: 10.1007/s00784-011-0531-1.

Buser D, von Arx T, ten Bruggenkate C, Weingart D. Basic surgical principles with ITI implants. Clin Oral Implant Res. 2000;11(suppl):59-68.

Byun H, Wang H. Sandwich bone augmentation using recombinant human platelet-derived growth factor and beta-tricalcium phosphate alloplast: case report. Int J Periodontics Restorative Dent. 2008;28:83-7.

Cano-Sánchez J, Campo-Trapero J, Gonzalo-Lafuente JC, Moreno-López LA, Bascones-Martínez A. Muestras de hueso sin descalcificar: descripción de técnica y utilidad basada en la literatura. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2005;10:E74-E87.

Cazalbou S, Eichert D, Ranz X, Drouet C, Combes C, Harmand MF, Rey C. Ion exchanges in apatites for biomedical application. J Mater Sci Mater Med. 2005;16(5):405-9.

Combes C, Rey C. Adsorption of proteins and calcium phosphate materials bioactivity. *Biomaterials*. 2002;23(13):2817-23.

Comuzzi L, Ooms E, Jansen JA. Injectable calcium phosphate cement as a filler for bone defects around oral implants: an experimental study in goats. *Clin Oral Impl Res*. 2002;13: 304-11.

Cornell CN, Lane JM. Current understanding of osteoconduction in bone regeneration. *Clin Orthop Relat Res*. 1998;355 Suppl:S267-73.

Darby I, Chen S, De Poi R. Ridge preservation: what is it and when should it be considered. *Aust Dent J*. 2008;53(1):11-21.

Darby I, Chen ST, Buser D. Ridge preservation techniques for implant therapy. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009;24 Suppl: 260-71.

De Coster P, Browaeys H, De Bruyn H. Healing of extraction sockets filled with BoneCeramic® prior to implant placement: preliminary histological findings. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2011;13(1):34-45. doi: 10.1111/j.1708-8208.2009.00184.x.

Deppe H, Horch H, Neff A. Conventional versus CO₂ laser-assisted treatment of peri-implant defectos with the concomitant use of pure-phase β -tricalcium phosphate: a 5-year clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007;22:79-86.

Donath K. Preparation of histologic sections. Norderstedt, Exakt-Kulzer-Publication, Germany, 1995 pp.1-16.

Dong J, Uemura T, Shirasaki Y, Tateishi T. Promotion of bone formation using highly pure porous β -TCP combined with bone marrow-derived osteoprogenitor cells. *Biomaterials*. 2002;23:4493-502.

Döri F, Huszár T, Nikolidakis D, Tihanyi D, Horváth A, Arweiler NB, Gera I, Sculean A. Effect of platelet-rich plasma on the healing of intrabony defects treated with beta tricalcium phosphate and expanded polytetrafluoroethylene membranes. *J Periodontol*. 2008;79:660-9.

Ducheyne P, Qiu Q. Bioactive ceramics: the effect of surface reactivity on bone formation and bone cell function. *Biomaterials*. 1999;20:2287-303.

El Helow K, El Askary Ael S. Regenerative barriers in immediate implant placement: a literature review. *Implant Dent*. 2008;17(3):360-71.

Ellingsen JE, Thomsen P, Lyngstadaas P. Advances in dental implant materials and tissue regeneration. *Periodontology 2000*. 2006;41:136-56.

Esposito M, Grusovin MG, Coulthard P, Worthington HV. The efficacy of various bone augmentation procedures for dental implants: A Cochrane systematic review of randomized controlled clinical trials. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2006;21:696-710.

Fawcett DW. Tratado de histología. 2ª ed. McGraw-Hill Interamericana de España. Madrid; 1995: 217-60.

Feng B, Jinkang Z, Zhen W, Jianxi L, Jiang C, Jian L, Guolin M, Xin D. The effect of pore size on tissue ingrowth and neovascularization in porous bioceramics of controlled architecture in vivo. *Biomed Mater*. 2011;6(1):015007.

Fiorellini JP, Kim DM, Nakajima Y, Weber HP. Osseointegration of titanium implants following guided bone regeneration using expanded polytetrafluoroethylene membrane and various bone fillers. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2007;27:287-94.

Fischer J, Kolk A, Wolfart S, Pautke C, Warnke PH, Plank C, Smeets R. Future of local bone regeneration - Protein versus gene therapy. *J Craniomaxillofac Surg*. 2011;39(1):54-64.

Foitzik C, Staus H, Le Fort I. Osteotomy in atrophied maxilla and bone regeneration with pure-phase β -tricalcium phosphate and PRP. *Implant Dent*. 2003;12:132-9.

Franco J, Souto A, Rey P, Guitián F, Martínez-Ínsua A. Procesamiento cerámico de β -TCP para la fabricación de piezas implantables. *Bol Soc Esp Ceram V*. 2006;45(4):265-70.

Franch J, Díaz-Bertrana C, Lafuente P, Fontecha P, Durall I. Beta-tricalcium phosphate as a synthetic cancellous bone graft in veterinary orthopaedics. A retrospective study of 13 clinical cases. *Vet Comp Orthop Traumatol*. 2006;19(4):196-204.

Frota R, Da Silva-Júnior VA, Teixeira M, Sobral AP, Emanuel-Dias-de Oliveira e Silva, Da Silveira MM, Aragão-Neto AC. Histological evaluation of bone repair using β -tricalcium phosphate. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011;16(2):e190-4.

Fujita R, Yokoyama A, Kawasaki T, Kohgo T. Bone augmentation osteogenesis using hydroxiapatite and β -tricalcium phosphate blocks. *J Oral Maxillofac Surg*. 2003;61:1045-53.

Fujita R, Yokoyama A, Nodasaka Y, Kohgo T, Kawasaki T. Ultrastructure of ceramic-bone interface using hydroxiapatite and β -tricalcium phosphate ceramic and replacement mechanism of β -tricalcium phosphate in bone. *Tissue & Cell*. 2003;35:427-40.

Gaasbeek RDA, Toonen HG, van Heerwaarden RJ, Buma P. Mechanism of bone incorporation of β -TCP bone substitute in open wedge tibial osteotomy in patients. *Biomaterials*. 2005;26:6713-9.

Gan Y, Dai K, Zhang P, Tang T, Zhu Z, Lu J. The clinical use of enriched bone marrow stem cells combined with porous beta-tricalcium phosphate in posterior spinal fusion. *Biomaterials*. 2008;29(29):3973-82.

Ghanaati S, Barbeck M, Orth C, Willershausen I, Thimm BW, Hoffmann C, Rasic A, Sader RA, Unger RE, Peters F, Kirkpatrick CJ. Influence of β -tricalcium phosphate granule size and morphology on tissue reaction in vivo. *Acta Biomater*. 2010;6(12):4476-87.

Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury*. 2005;36 Suppl 3:S20-7.

Habraken WJEM, Wolke JGC, Jansen JA. Ceramic composites and scaffolds for drug delivery in tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev*. 2007;59(4-5):234-48.

Hallman M, Thor A. Bone substitutes and growth factors as an alternative/complement to autogenous bone for grafting in implant dentistry. *Periodontol 2000*. 2008;47:172-92.

Hench LL. Bioceramics. J Am Ceram Soc. 1998;81(7):1705-28.

Hirota M, Matsui Y, Mizuki N, Kishi T, Watanuki K, Ozawa T, Fukui T, Shoji S, Adachi M, Monden Y, Iwai T, Tohnai I. Combination with allogenic bone reduces early absorption of beta-tricalcium phosphate (beta-TCP) and enhances the role as a bone regeneration scaffold. Experimental animal study in rat mandibular bone defects. Dent Mater J. 2009;28(2):153-61.

Horch HH, Sader R, Pautke C, Neff A, Deppe H, Kolk A. Synthetic, pure-phase beta-tricalcium phosphate ceramic granules (Cerasorb) for bone regeneration in the reconstructive surgery of the jaws. Int J Oral Maxillofac Surg. 2006;35(8):708-13.

Horowitz RA, Mazor Z, Miller RJ, Krauser J, Prasad HS, Rohrer MD. Clinical evaluation alveolar ridge preservation with a beta-tricalcium phosphate socket graft. Compend Contin Educ Dent. 2009;30(9):588-90, 592, 594 passim; quiz 604, 606.

Hsu YH, Turner IG, Miles AW. Mechanical characterization of dense calcium phosphate bioceramics with interconnected porosity. J Mater Sci Mater Med. 2007;18:2319-29.

Iasella JM, Greenwell H, Miller RL, Hill M, Drisko C, Bohra AA, Scheetz JP. Ridge preservation with freeze-dried bone allograft and a collagen membrane compared to extraction alone for implant site development: a clinical and histologic study in humans. J Periodontol. 2003;74(7):990-9.

Jayakumar A, Rajababu P, Rohini S, Butchibabu K, Naveen A, Reddy PK, Vidyasagar S, Satyanarayana D, Pavan Kumar S. Multi-centre, randomized clinical trial on the efficacy and safety of recombinant human platelet-derived growth factor with β -tricalcium

phosphate in human intra-osseous periodontal defects. *J Clin Periodontol.* 2011;38(2):163-72. doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01639.x.

Jensen SS, Aaboe M, Pinholt EM, Hjorting-Hansen E, Melsen F, Ruyter IE. Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1996;11:55-66.

Jensen SS, Broggini N, Wiebrich G, Hjørtting-Hansen E, Schenk R, Buser D. Bone regeneration in standardized bone defects with autografts or bone substitutes in combination with platelet concentrate: a histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005;20:703-12.

Jensen SS, Broggini N, Horting-hansen E, Schenk R, Buser D. Bone healing and graft resorption of autograft, anorganic bovine bone and beta-tricalcium phosphate. A histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. *Clin Oral Impl Res.* 2006;17:237-43.

Jiang XQ, Sun XJ, Lai HC, Zhao J, Wang SY, Zhang ZY. Maxillary sinus floor elevation using a tissue-engineered bone complex with beta-TCP and BMP-2 gene-modified bMSCs in rabbits. *Clin Oral Implants Res.* 2009;20(12):1333-40.

Jung UW, Choi SY, Pang EK, Kim CS, Choi SH, Cho KS. The effect of varying the particle size of beta tricalcium phosphate carrier of recombinant human bone morphogenetic protein-4 on bone formation in rat calvarial defects. *J Periodontol.* 2006;77:765-72.

Jung RE, Weber FE, Thoma DS, Ehrbar M, Cochran DL, Hämmerle CHF. Bone morphogenetic protein-2 enhances bone formation when delivered by a synthetic

matrix containing hydroxyapatite/tricalciumphosphate. Clin Oral Implant Res. 2008;19:188-95.

Kalk VW, Raghoobar GM, Jansma J, Boering G. Morbidity from iliac crest bone harvesting. J Oral Maxillofac Surg. 1996;54:1424-9.

Kamitakahara M, Ohtsuki C, Miyazaki T. Review paper: behavior of ceramic biomaterials derived from tricalcium phosphate in physiological condition. J Biomater Appl. 2008;23(3):197-212.

Kasten P, Beyen I, Niemeyer P, Luginbühl R, Böhner M, Richter W. Porosity and pore size of beta-tricalcium phosphate scaffold can influence protein production and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells: an in vitro and in vivo study. Acta Biomater. 2008;4(6):1904-15.

Khan Y, Yaszemski MJ, Mikos AG, Laurencin CT. Tissue engineering of bone: material and matrix considerations. J Bone Joint Surg Am. 2008;90 Suppl 1:36-42.

Kim HM, Himeno T, Kawashita M, Kokubo T, Nakamura T. The mechanism of biomineralization of bone-like apatite on synthetic hydroxyapatite: an in vitro assessment. J R Soc Interface. 2004;1(1):17-22.

Klein CPAT, Patka P, den Hollander W. Macroporous calcium phosphate bioceramics in dog femora: a histological study on interface and biodegradation. Biomaterials. 1989;10:59-62

Knabe C, Stiller M, Berger G, Reif D, Gildenhaar R, Howlett CR, Zreiqat H. The effect of bioactive glass ceramics on the expression of bone-related genes and proteins in vitro. Clin Oral Implants Res. 2005;16(1):119-27.

Koch FP, Becker J, Terheyden H, Capsius B, Wagner W. A prospective, randomized pilot study on the safety and efficacy of recombinant human growth and differentiation factor-5 coated onto β -tricalcium phosphate for sinus lift augmentation. Clin Oral Implants Res. 2010;21(11):1301-8. doi:10.1111/j.1600-0501.2010.01949.x.

Kokubo T, Kim HM, Kawashita M. Novel bioactive materials with different mechanical properties. Biomaterials. 2003;24(13):2161-75.

Kondo N, Ogose A, Tokunaga K, Ito T, Arai K, Kudo N, Inoue H, Irie H, Endo N. Bone formation and resorption of highly purified β -tricalcium phosphate in the rat femoral condyle. Biomaterials. 2005; 26:5600-8.

Kühl S, Götz H, Hansen T, Kreisler M, Behneke A, Heil U, Duschner H, d'Hoedt B. Three-dimensional analysis of bone formation after maxillary sinus augmentation by means of microcomputed tomography: a pilot study. Int J Oral Maxillofac Implants. 2010;25(5):930-8.

Lee JS, Wikesjö UM, Jung UW, Choi SH, Pippig S, Siedler M, Kim CK. Periodontal wound healing/regeneration following implantation of recombinant human growth/differentiation factor-5 in a beta-tricalcium phosphate carrier into one-wall intrabony defects in dogs. J Clin Periodontol. 2010;37(4):382-9.

LeGeros RZ. Calcium phosphate materials in restorative dentistry: a review. *Adv Dent Res.* 1988;2(1):164-80.

LeGeros RZ. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. *Clin Orthop Relat Res.* 2002;(395):81-98.

Le Guéhennec L, Layrolle P, Daculsi G. A review of bioceramics and fibrin sealant. *Eur Cell Mater.* 2004;8:1-10; discussion 10-1.

Le Nihouannen D, Saffarzadeh A, Aguado E, Goyenvallé E, Gauthier O, Moreau F, Pilet P, Spaethe R, Daculsi G, Layrolle P. Osteogenic properties of calcium phosphate ceramics and fibrin glue based composites. *J Mater Sci Mater Med.* 2007;18(2):225-35.

Lekovic V, Kenney EB, Weinlander M, Han T, Klokkevold P, Nedic M, Orsini M. A bone regenerative approach to alveolar ridge maintenance following tooth extraction. *J Periodontol.* 1997; 68:563-70.

Linovitz RJ, Peppers TA. Use of an advanced formulation of b-tricalcium phosphate as a bone extender in interbody lumbar fusion. *Orthopedics.* 2002;25(5 Suppl):s585-9.

Liu G, Zhao L, Cui L, Liu W, Cao Y. Tissue-engineered bone formation using human bone marrow stromal cells and novel beta-tricalcium phosphate. *Biomed Mater.* 2007;2(2):78-86.

Maréchal M, Eyckmans J, Schrooten J, Schepers E, Luyten FP, van Steenberghe D. Bone augmentation with autologous periosteal cells and two different calcium phosphate scaffolds under an occlusive titanium barrier: an experimental study in rabbits. *J Periodontol.* 2008;79:896-904.

Marković S, Veselinović L, Lukić MJ, Karanović L, Bračko I, Ignjatović N, Uskoković D. Synthetical bone-like and biological hydroxyapatites: a comparative study of crystal structure and morphology. *Biomed Mater*. 2011;6(4):045005.

Masago H, Shibuya Y, Munemoto S, Takeuchi J, Umeda M, Komori T, Kuboki Y. Alveolar ridge augmentation using various bone substitutes--a web form of titanium fibers promotes rapid bone development. *Kobe J Med Sci*. 2007;53(5):257-63.

Martinez A, Franco J, Saiz E, Guitian F. Maxillary sinus floor augmentation on humans: Packing simulations and 8 months histomorphometric comparative study of anorganic bone matrix and β -tricalcium phosphate particles as grafting materials. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2010 Jun 15;30(5):763-9.

McAllister BS, Haghighat K. Bone augmentation techniques. *J Periodontol*. 2007;78(3):377-96.

McAllister BS, Haghighat K, Prasad HS, Rohrer MD. Histologic evaluation of recombinant human platelet-derived growth factor-BB after use in extraction socket defects: a case series. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2010;30(4):365-73.

Minsk L. Bone replacement grafts for periodontal regeneration. *Compend Contin Educ Dent*. 2005;26(9):676, 678, 680 passim

Momma F, Nakazawa T, Amagasa M. Repair and regeneration of vertebral body after antero-lateral partial vertebrectomy using beta-tricalcium phosphate. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2008;48(8):337-42.

Murai M, Sato S, Koshi R, Yokoyama K, Ikeda K, Narukawa M, Takayama T, Yoshinuma

N, Ito K. Effects of the enamel matrix derivative and β -tricalcium phosphate on bone augmentation within a titanium cap in rabbit calvarium. *J Oral Sci.* 2005;47:209-17.

Nakajima Y, Fiorellini JP, Kim DM, Weber HP. Regeneration of standardized mandibular bone defects using expanded polytetrafluoroethylene membrane and various bone fillers. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2007;27:151-9.

Nikolidakis D, Meijer GJ, Jansen JA. Sinus floor elevation using platelet-rich plasma and beta-tricalcium phosphate: case report and histological evaluation. *Dent Today.* 2008;27(5):66, 68, 70; quiz 71.

Nkenke E, Schultze-Mosgau S, Radespiel-Tröger M, Kloss F, Neukam FW. Morbidity of harvesting of chin grafts: a prospective study. *Clin Oral Implants Res.* 2001;12(5):495-502.

Nkenke E, Radespiel-Tröger M, Wiltfang J, Schultze-Mosgau S, Winkler G, Neukam FW. Morbidity of harvesting of retromolar bone grafts: a prospective study. *Clin Oral Implants Res.* 2002;13(5):514-21.

Nkenke E, Weisbach V, Winckler E, Kessler P, Schultze-Mosgau S, Wiltfang J, Neukam FW. Morbidity of harvesting of bone grafts from the iliac crest for preprosthetic augmentation procedures: a prospective study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004;33(2):157-63.

Nolff MC, Kokemueller H, Hauschild G, Fehr M, Bormann KH, Spalthoff S, Rohn K, Ruecker M, Gellrich NC. Comparison of computed tomography and microradiography for graft evaluation after reconstruction of critical size bone defects using beta-

tricalcium phosphate. J Craniomaxillofac Surg. 2010;38(1):38-46.

Norton MR, Wilson J. Dental implants placed in extraction sites implanted with bioactive glass: human histology and clinical outcome. Int J Oral Maxillofac Implants. 2002;17:249-57.

Ogose A, Hotta H, Kawashima H, Tokunaga K, Endo N, Umezu H. Histological examination of β -tricalcium phosphate graft in human femur. J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater. 2002;63:601-4.

Ogose A, Hotta H, Kawashima H, Kondo N, Gu W, Kamura T, Endo N. Comparison of hydroxiapatite and beta tricalcium phosphate as bone substitutes after excision of bone tumors. J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater. 2005;72B:94-101.

Ogose A, Kondo N, Umezu H, Hotta T, Kawashima H, Tokunaga K, Ito T, Kudo N, Hoshino M, Gu W, Endo N. Histological assessment in grafts of highly purified beta-tricalcium phosphate (OSferion®) in human bones. Biomaterials. 2006;27:1542-9.

Ohtsuki C, Kamitakahara M, Miyazaki T. Bioactive ceramic-based materials with designed reactivity for bone tissue regeneration. J R Soc Interface. 2009;6 Suppl 3:s349-60.

Ono D, Jimbo R, Kawachi G, Ioku K, Ikeda T, Sawase T. Lateral bone augmentation with newly developed β -tricalcium phosphate block: an experimental study in the rabbit mandible. Clin Oral Implants Res. 2011. doi: 10.1111/j.1600-0501.2010.02117.x.

Okuda T, Ioku K, Yonezawa I, Minagi H, Kawachi G, Gonda Y, Murayama H, Shibata Y, Minami S, Kamihira S, Kurosawa H, Ikeda T. The effect of the microstructure of β -

tricalcium phosphate on the metabolism of subsequently formed bone tissue. *Biomaterials*. 2007;28:2612-21.

Ormianer Z, Palti A, Shifman A. Survival of immediately loaded dental implants in deficient alveolar bone sites augmented with beta-tricalcium phosphate. *Implant Dent*. 2006;15:395-403.

Palti A, Hoch T. A concept for the treatment of various dental bone defects. *Implant Dent*. 2002;11(1):73-8.

Passutti N, Delécrin J, Daculsi G. Experimental data regarding macroporous biphasic calcium phosphate ceramics. *Eur J Orthop Sur Traumatol*. 1997;7:79-84.

Payer M, Lohberger B, Stadelmeyer E, Bartmann C, Windhager R, Jakse N. Behaviour of multipotent maxillary bone-derived cells on beta-tricalcium phosphate and highly porous bovine bone mineral. *Clin Oral Implants Res*. 2010;21(7):699-708.

Piatelli A, Scarano A, Mangano C. Clinical and histologic aspects of biphasic calcium phosphate ceramic (BCP) used in connection with implant placement. *Biomaterials*. 1996;17(18):1767-70.

Plenk Jr H, Chyplik L, Lederer J. Unique bone substitution of TCP-granulates (Cerasorb®) during degradation in human sinus floor elevation. *Eur Cell Mater*. 2007;14(Suppl1):24.

Ridgway HK, Mellonig JT, Cochran DL. Human histologic and clinical evaluation of recombinant human platelet-derived growth factor and beta-tricalcium phosphate for the treatment of periodontal intraosseous defects. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2008;28:171-9.

Schlegel KA, Schultze-Mosgau S, Wiltfang J, Neukam FW, Rupprecht S, Thorwarth M. Changes of mineralization of free autogenous bone grafts used for sinus floor elevation. *Clin Oral Implants Res* 2006;17(6):673-8.

Schnettler R, Stahl JP, Alt V, Pavlidis T, Dingeldein E. Calcium phosphate-based bone substitutes. *Eur J Trauma*. 2004;30:219-29.

Schwartz Z, Goldstein M, Raviv E, Hirsch A, Ranly DM, Boyan BD. Clinical evaluation of demineralized bone allograft in a hyaluronic acid carrier for sinus lift augmentation in humans: a computed tomography and histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res* 2007;18(2):204-11.

Sethi A, Kaus T. Maxillary ridge expansion with simultaneous implant placement: 5-year results of an ongoing clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000;15:491-9.

Shegarfi H, Reikeras O. Review article: bone transplantation and immune response. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2009;17(2):206-11.

Simunek A, Kopecka D, Somanathan RV, Pilathadka S, Brazda T. Deproteinized bovine bone versus beta-tricalcium phosphate in sinus augmentation surgery: a comparative histologic and histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2008;23(5):935-42.

Shayesteh YS, Khojasteh A, Soleimani M, Alikhasi M, Khoshzaban A, Ahmadbeigi N. Sinus augmentation using human mesenchymal stem cells loaded into a β -tricalcium phosphate/hydroxiapatite scaffold. *Oral Sur Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008;106:203-9.

Stavropoulos A, Becker J, Capsius B, Açil Y, Wagner W, Terheyden H. Histological evaluation of maxillary sinus floor augmentation with recombinant human growth and differentiation factor-5-coated β -tricalcium phosphate: results of a multicenter randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2011; doi: 10.1111/j.1600-051X.2011.01754.x

Suba Z, Takács D, Gyulai-Gaál S, Kovács K. Facilitation of beta-tricalcium phosphate-induced alveolar bone regeneration by platelet-rich plasma in beagle dogs: a histologic and histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2004;19:832-8.

Suba Z, Takács D, Matusovits D, Barabás J, Fazekas A, Szabó G. Maxillary sinus floor grafting with beta-tricalcium phosphate in humans : density and microarchitecture of the newly formed bone. *Clin Oral Impl Res*. 2006;17:102-8.

Szabó G, Suba Z, Hrabák K, Barabás J, Németh Z. Autogenous bone versus beta-tricalcium phosphate graft alone for bilateral sinus elevations (2- and 3-dimensional computed tomographic, histologic, and histomorphometric evaluations): preliminary results. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2001;16(5):681-92.

Szabó G, Huys L, Coulthard P, Maiorana C, Garagiola U, Barabas J, Németh Z, et al. A prospective multicenter randomized clinical trial of autogenous bone versus beta-tricalcium phosphate graft alone for bilateral sinus elevation: histologic and histomorphometric evaluation. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2005;20:371-81.

Tadic D, Epple M. A thorough physicochemical characterization of 14 calcium phosphate-based bone substitution materials in comparison to natural bone. *Biomaterials*. 2004;25:987-94.

Takahashi Y, Yamamoto M, Tabata Y. Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in biodegradable sponges composed of gelatin and beta-tricalcium phosphate. *Biomaterials*. 2005;26(17):3587-96.

Takahashi K. Effect of new bone substitute materials consisting of collagen and tricalcium phosphate. *Bull Tokyo Dent Coll*. 2009;50(1):1-11.

Tamura K, Sato S, Kishida M, Asano S, Murai M, Ito K. The use of porous β -tricalcium phosphate blocks with platelet-rich plasma as onlay bone graft biomaterial. *J Periodontol*. 2007;78:315-21.

Ten Cate AR. *Histología oral. Desarrollo, estructura y función*. 2ª ed. Médica Panamericana. Buenos Aires. 1986: 146-70.

Tetsch J, Tetsch P, Lysek DA. Long-term results after lateral and osteotome technique sinus floor elevation: a retrospective analysis of 2190 implants over a time period of 15 years. *Clin Oral Implants Res*. 2010;21(5):497-503.

Tripplet RG, Schow SR, Laskin DM. Oral and maxillofacial surgery advances in implant dentistry. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000;15:47-55.

Uckan S, Deniz K, Dayangac E, Araz K, Ozdemir BH. Early implant survival in posterior maxilla with or without beta-tricalcium phosphate sinus floor graft. *J Oral Maxillofac Surg*. 2010;68(7):1642-5.

Vaccaro AR. The role of the osteoconductive scaffold in synthetic bone graft. *Orthopedics*. 2002;25(5 Suppl):s571-8.

Velasco Ortega E, Pato Mourelo J, Segura Egea JJ, Pérez Pérez O, Medel Soteras R. La

utilización del betafosfato tricálcico como biomaterial en implantología oral. Av Periodon Implantol. 2007;19(3):141-9.

Velasco Ortega E, Pato Mourelo J, Lorrio Castro JM, Cruz Valiño JM, Poyato Ferreira M. El tratamiento con implantes dentales post-extracción. Av Periodon Implantol. 2007;19(Suppl):35-42.

Velasco Ortega E, Pato Mourelo J, García Méndez A, Medel Soteras R, López Frías J. Estudio clínico e histológico del beta-fosfato tricálcico en la elevación del seno maxilar. Av Periodon Implantol. 2008;20(3):147-54.

Velich N, Németh Z, Tóth C, Szabó G. Long-term results with different bone substitutes used for sinus floor elevation. J Craniofac Surg. 2004;15(1):38-41.

Velich N, Németh Z, Hrabák K, Suba Z, Szabó G. Repair of bony defect with combination biomaterials. J Craniofac Surg. 2004;15(1):11-5.

von Doernberg MC, von Rechenberg B, Bohner M, Grünenfelder S, van Lenthe GH, Müller R, Gasser B, Mathys R, Baroud G, Auer J. In vivo behavior of calcium phosphate scaffolds with four different pore sizes. Biomaterials. 2006;27(30):5186-98.

Walsh WR, Vizesi F, Michael D, Auld J, Langdown A, Oliver R, Yu Y, Irie H, Bruce W. Beta-TCP bone graft substitutes in a bilateral rabbit tibial defect model. Biomaterials. 2008;29(3):266-71.

Wang M. Developing bioactive composite materials for tissue replacement. Biomaterials. 2003;24(13):2133-51.

Wiltfang J, Merten HA, Schlegel KA, Schultze-Mosgau S, Kloss FR, Rupprecht S, Kessler P. Degradation characteristics of alpha and beta tri-calcium-phosphate (TCP) in minipigs. *J Biomed Mater Res.* 2002;63(2):115-21.

Xia L, Xu Y, Chang Q, Sun X, Zeng D, Zhang W, Zhang X, Zhang Z, Jiang X. Maxillary sinus floor elevation using BMP-2 and Nell-1 gene-modified bone marrow stromal cells and TCP in rabbits. *Calcif Tissue Int.* 2011;89(1):53-64.

Yamauchi K, Takahashi T, Funaki K, Yamashita Y. Periosteal expansion osteogenesis using highly purified beta-tricalcium phosphate blocks: a pilot study in dogs. *J Periodontol.* 2008;79(6):999-1005.

Yamauchi K, Takahashi T, Funaki K, Hamada Y, Yamashita Y. Histological and histomorphometrical comparative study of β -tricalcium phosphate block grafts and periosteal expansion osteogenesis for alveolar bone augmentation. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2010;39(10):1000-6.

Ye F, Lu X, Lu B, Wang J, Shi Y, Zhang L, Chen J, Li Y, Bu H. A long-term evaluation of osteoinductive HA/beta-TCP ceramics in vivo: 4.5 years study in pigs. *J Mater Sci Mater Med.* 2007;18(11):2173-8.

Yefang Z, Hutmacher DW, Varawan SL, Meng LT. Comparison of human alveolar osteoblasts cultured on polymer-ceramic composite scaffolds and tissue culture plates. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2007;36(2):137-45.

Zafiropoulos GG, Hoffmann O, Kasaj A, Willershausen B, Weiss O, Van Dyke TE. Treatment of intrabony defects using guided tissue regeneration and autogenous

spongiosa alone or combined with hydroxyapatite/beta-tricalcium phosphate bone substitute or bovine-derived xenograft. *J Periodontol.* 2007;78(11):2216-25.

Zerbo IR, Zijderfeld SA, de Boer A, Bronckers AL, de Lange G, ten Bruggenkate CM, Burger EH. Histomorphometry of human sinus floor augmentation using a porous beta-tricalcium phosphate: a prospective study. *Clin Oral Implants Res.* 2004;15(6):724-32.

Zerbo IR, Bronckers AL, de Lange G, Burger EH. Localisation of osteogenic and osteoclastic cells in porous beta-tricalcium phosphate particles used for human maxillary sinus floor elevation. *Biomaterials.* 2005;26(12):1445-51.

Zhao J, Hu J, Wang S, Sun X, Xia L, Zhang X, Zhang Z, Jiang X. Combination of beta-TCP and BMP-2 gene-modified bMSCs to heal critical size mandibular defects in rats. *Oral Dis.* 2010;16(1):46-54.

Zhao J, Watanabe T, Bhawal UK, Kubota E, Abiko Y. Transcriptome analysis of β -TCP implanted in dog mandible. *Bone.* 2011;48(4):864-77.

Zijderfeld SA, Zerbo IR, van der Bergh JPA, Schulten EAJM, ten Bruggenkate CM. Maxillary sinus floor augmentation using a beta-tricalcium phosphate (Cerasorb) alone compared to autogenous bone grafts. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005;20:432-40.

Zijderfeld SA, Schulten EA, Aartman IH, ten Bruggenkate CM. Clin Long-term changes in graft height after maxillary sinus floor elevation with different grafting materials: radiographic evaluation with a minimum follow-up of 4.5 years. *Oral Implants Res.* 2009;20(7):691-700.

9. TRABAJOS DERIVADOS DE LA TESIS

9. TRABAJOS DERIVADOS DE LA TESIS

Submitted to Dental Materials:

TITLE: Post-extraction application of beta-tricalcium phosphate in alveolar socket

ABSTRACT

Objectives: Maxillary bone defects, which have highly varied aetiologies, can hinder the surgical phase of implant treatment by leaving inadequate bone volume for the implant placement. The objective of this study was to assess the capacity of β -tricalcium phosphate KeraOs® to facilitate bone formation in the socket and prevent post-extraction alveolar resorption when applied before implant placement.

Methods: After premolar extraction in 16 patients, the sockets were filled with β -tricalcium phosphate. Six months later, during the implant loading surgery, a trephine biopsy of the bone was taken and underwent histological and histomorphometrical analysis.

Results: Clinical outcomes were satisfactory, and the biomaterial was highly dense on X-ray, showing no alterations. Histological study showed: partial filling with alveolar bone of appropriate maturation and mineralization for the healing time, osteoblastic activity and bone lacunae containing osteocytes. The biomaterial was not completely resorbed at six months, and close contact was observed between patient bone and biomaterial particles.

Significance: The maturation and mineralization of the bone formed in the socket is as expected for a healing time of 6 months, with the presence of osteoblastic activity and bone lacunae containing osteocytes. The biomaterial is not completely resorbed at six months, when abundant remains are in direct contact with or surrounded by newly formed bone and disappear at the same rate as that of new bone formation. There is close contact between patient bone and biomaterial particles at 6 months, and no interface can be observed between them.

KEY WORDS: bone graft, bone regeneration, calcium phosphate, dental implant, osteoconduction.

1. INTRODUCTION

In normal conditions, healthy bone is under continuous bone remodelling and has an effective self-repair capacity. Bone remodelling maintains a continuous balance of bone creation and destruction in a dynamic process that adapts the bone to local forces [1]. Above a critical defect size, however, bone cannot be repaired by its own osteogenic activity, and some type of bone graft must be used [2].

Jaw bone defects can be caused by surgical resection, traumatic loss, ossification impairment in the elderly, periodontal and peri-implant diseases, and congenital disorders, among others. These defects may complicate the surgical phase of implant treatment by leaving insufficient bone volume for an adequate implantation [3,4]. Jaw bone loss is frequently caused

by post-extraction alveolar resorption, a physiological phenomenon in which the original height and width of the alveolar ridge are reduced to a degree that varies among localizations and patients [5].

The healing of an alveolar socket after tooth extraction involves internal changes that lead to bone formation in the socket and external changes that reduce the height and width of the alveolar ridge [5]. Alveolar ridge preservation techniques have been developed to address the ensuing clinical problem, especially in aesthetic areas. They are conducted during or after extraction and are designed to minimize external ridge resorption and maximize bone formation in the socket [5]. Measures include the utilization of autologous bone grafts, allografts, bone of animal origin (xenografts), and synthetic bone substitutes (alloplastic grafts) as well as the application of growth factors and gene therapies [3, 4, 6].

β -tricalcium phosphate is widely used as a biocompatible, resorbable, and osteoconductive ceramic substitute to repair bone defects. Thanks to its, physicochemical characteristics, it has been successfully used to fill spaces in multiple settings, including biology, veterinary medicine, human medicine and dentistry [7-12]. It has also been proposed as a vehicle for growth factors that stimulate bone formation [12, 13]. Various authors have reported on its capacity as a biomaterial for bone regeneration in animals and humans (Tables 1 and 2) [4, 14-21].

The study hypothesis was that utilization of granular β -tricalcium phosphate (β -TCP) to fill the socket after tooth extraction achieves adequate bone regeneration, avoids physiological alveolar ridge resorption and preserves the original height and width of the alveolar bone for subsequent implant placement.

The study objectives were: (1) to analyze the clinical and radiological results obtained after placement of the biomaterial in the socket post-extraction and at the subsequent insertion of dental implants; (2) to assess the effectiveness of β -TCP as bone filling material in the post-extraction socket, (3) to perform histological analysis of the amount and quality of bone formed in the dental socket at six months after placing the biomaterial, and (4) to determine the percentage contact between patient bone and biomaterial particles at implant placement.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 Type of study: Prospective longitudinal observational clinical study.

2.2 Patients: All patients in the study were aged over 18 years and scheduled for ≥ 1 premolar extraction due to periodontal disease, caries or fractures and for subsequent replacement with dental implant(s) up to a maximum of four premolar extractions (one per quadrant) per patient. Exclusion criteria were: failure to sign informed consent or commit to compliance with the study appointment schedule; the presence of endocrine-metabolic disease or chronic, general or local disease; the presence of disease that may be affected by the surgery or by the intraoperative or postoperative medication; alveolar socket wall defects; smoking habit of ≥ 10 cigarettes/day; and treatment with bisphosphonates or antibiotics during the previous month. Patients were recruited from the School of Dentistry clinic (Complutense

University of Madrid) and private clinics. We conducted a non-probabilistic sampling of consecutive cases and included patients who met the above criteria.

2.3 Study design: After a baseline clinical assessment, all patients received basic periodontal therapy before the surgery and were instructed to maintain good oral hygiene throughout the study.

Surgical procedure: After applying local anaesthesia and performing full-thickness buccal and tongue flap elevation, the premolar was extracted in the most atraumatic manner possible. Any granulation tissue present in the socket was removed by surgical curettage. The socket was filled with 0.5 g β -TCP KeraOs® (Keramat, La Coruña, Spain) mixed with physiological saline or blood from the same patient (Figure 1); it was never mixed with bone from the patient. After the socket was filled, it was closed by suture using a coronal displacement flap. After the extraction and filling, patients were instructed to rinse daily for two weeks with 0.12% chlorhexidine digluconate. Sutures were removed at 7-10 days post-extraction.

During the implant placement surgery (at around 6 months), a specimen of the bone formed in this area was extracted with a trephine (inner diameter of 2.2 mm, outer diameter of 3 mm), placed in a 10% buffered formalin container and sent to the Ceramic Institute of Galicia laboratory for processing and pathological study.

2.4 Pathological study: The specimens were processed to obtain thin film undecalcified sections following Donath's method and using the EXACT system. Shortly, specimens were fixed in buffered 10% formalin, progressively dehydrated in alcohol, and then embedded in photopolymerizable methacrylate resin. After polymerization, the resin was cut with a diamond saw and then ground with silicon carbide papers to a width of ~ 70 microns. After thinning, samples were stained with Levaí Laczko stain and chromotrope 2R/Harris hematoxylin. For the thin films study we used a motorized Olympus BX51 microscope with Olympus DP71 camera. The capture software used was Olympus D-cell. The image processing software was Photoshop CS3 with a Wacom Intuos pen tablet 4L, and the measurement program was MicroImage 4.0 of Olympus.

2.5 Study variables: Data were gathered on: (1) patient variables: sex, age, and consumption of alcohol and cigarettes; (2) clinical variables: biomaterial migration, radiological findings and primary implant stability; (3) histological variables at 6 months: degree of bone neoformation in socket, amount and quality of newly formed bone, degree of contact between patient bone and β -TCP and degree of β -TCP resorption; and (4) histomorphometric variables: areas of newly formed bone, immature bone, old bone, biomaterial and lamellar bone, bone-implant contact index (perimeter of material in contact with bone / perimeter of whole material), remnant volume (surface of material present / [surface of material present + total bone surface]) and immature:mature bone ratio (mature bone surface / total bone surface).

2.6 Data collection: Patient data and clinical data were gathered on specific forms at three time points: the first at tooth extraction; the second at suture withdrawal (7-10 days post-

extraction); and the third at implant placement and histological sampling at around 6 months post-extraction.

Histological data were gathered from the report prepared by the anatomical pathology laboratory.

2.7 Data analysis: Microsoft Excel and SPSS were used for the statistical analyses, which included: descriptive analysis of patient, clinical and histomorphometric variables; frequency histograms for histomorphometric variables; Shapiro-Wilks normality tests for histomorphometric variables, age and healing time; 95% confidence intervals for histomorphometric variables; use of the Pearson correlation coefficient to analyse associations of different histomorphometric variables with each other and with healing time and age; analysis of variance (ANOVA) to determine the effect of healing time on newly formed bone area, biomaterial area and bone-implant contact index; and the Student's t test to compare newly formed bone area, biomaterial area and bone-implant contact index between shorter and longer healing times (5-6 months versus 7-8 months, respectively).

3. RESULTS

3.1 Patient variables

Sixteen patients were enrolled in the study between March 2008 and July 2010, with a mean age of 44.3 yrs (standard deviation: 10.74); seven were male (44%) with mean age of 39.7 yrs and nine were female (56%) with mean age of 48 yrs. No participant (0%) was a daily drinker of alcohol, and two (12%) were daily smokers (of 1-9 cigarettes). A total of 19 upper and 2 lower teeth were extracted. One male abandoned the study before implant placement. Among the 15 remaining patients, 21 biopsies were taken after a mean healing time of 6.2 months (standard deviation: ± 1.05). Out of the 21 biopsies, 3 were impaired during grinding and could not be processed, and 2 were incorrectly sampled and excluded from the analyses. Hence histological and histomorphometric analyses were conducted in a final sample of 16 biopsies (Table 3).

3.2 Clinical variables:

None of the patients showed biomaterial migration at implant placement; in some cases, the most superficial area showed residual graft particles that had no effect on the surgical procedure or primary stability, which was obtained in all cases. X-ray images revealed no complications or findings of interest, except for the high radiopacity and consequent ready identification of the material.

3.3 Histological variables: No biomaterial fragments or necrotic bone splinters were detected in any of the 16 biopsies analyzed. In 3 cases, the biomaterial was integrated in the bone and surrounded by fibrous tissue with scant osteoblastic rimming and osteoid; in 1 case, the biomaterial was surrounded by lax conjunctive tissue; in 5 cases, it was surrounded by mature bone trabeculae with scant osteoid and osteoblastic rimming; in 7 cases, modest to

highly abundant immature bone trabeculae growth was observed with osteoid and osteoblastic ridge. Ten of the biopsies showed the presence of medullary fibrosis, at a low level in most cases.

Evidence of vital bone growth was found in the sockets, with bone neoformation in close contact with graft particles. All samples showed residual particles of the material, with various degrees of material remodelling and resorption (Figures 2 and 3). The histological study at 6 months revealed that the degree of bone neoformation in the socket was in general moderate, the newly formed bone was immature (consistent with the healing time), the newly formed bone was surrounded and in direct contact with biomaterial fragments and the β -TCP material showed initial signs of resorption.

3.4 Histomorphometric variables

Table 4 exhibits the results of the histomorphometric variables, which were found to follow a normal distribution (Shapiro-Wilk test). As shown in the frequency histograms in Figure 4, the percentage contact between bone and implant was <20% in 8 of the 15 biopsies and the newly formed bone area was <20% in most of them; the biomaterial area was <20% in most of the biopsies. Calculation of 95% confidence intervals showed significance for all variables, with the exception of immature bone area and lamellar bone area, for which there were measurements in only two cases (Table 5).

These two variables were excluded from analysis, using Pearson's correlation coefficient, of the relationships of histomorphometric variables with each other and with healing time and age; a positive correlation was found between remnant volume and biomaterial area ($p=0.0056$) and between old bone area and the immature bone:mature bone ratio ($p=0.015$).

Although the healing period was established as 6 months for this study, this time was sometimes influenced by specific patient circumstances and ranged from 5 to 8 months. An ANOVA was performed to analyse the results for newly formed bone area, biomaterial area and bone-implant contact index as a function of healing time, finding no significant differences as a function of healing time. A Student's *t* test was then performed to compare newly formed bone area, biomaterial area and bone-implant contact index between healing times of 5-6 months and 7-8 months, finding no significant differences, although borderline significance ($p=0.08$) was obtained for newly formed bone area.

4. DISCUSSION

In this study, post-extraction placement of β -TCP in the socket was associated with complication-free healing and good clinical outcomes, and there was histological evidence of bone neoformation activity at implant placement, with the presence of osteocytes and immature bone. At implant placement, the percentage contact between bone and implant was less than 20% in eight of the fifteen biopsies and the newly formed bone area was less than 20% in most of them, although it was more than 40% in two. The biomaterial area was less than 20% in most of the biopsies, confirming the resorbability of the biomaterial.

Araújo et al [25] investigated the influence of β -TCP on tissue formation during post-extraction socket healing in beagle dogs, applying histological, histomorphometric and immunohistochemical analyses. They reported that the early healing of β -TCP-filled dental sockets involves the formation of a clot that is replaced by granulation tissue and a provisional matrix on which spongy bone can be formed, concluding that the biomaterial participates in this process.

Clinical studies on humans generally require the use of non-invasive techniques, e.g., radiology; but a biopsy study is the currently optimal method to assess the regeneration, quantity and quality of bone. A two-phase approach, inserting the graft in the first phase and the implant in the second, allows a histological sample to be obtained [20]. This technique was applied in the present study.

Some data are available on the use of β -TCP for alveolar preservation [22-24]. In 2008, Brkovic et al [23] reported the case of a patient treated with β -TCP and type I collagen for socket preservation before implant placement, without covering the socket with mucoperiosteal membrane or flap; X-rays at 1 week and 4 and 9 months and biopsy study at 9 months evidenced good healing with no complications, although a slight horizontal reduction of the alveolar ridge was found at implant placement. No visible particles were detectable on the day of the implant. Histological sections revealed a large amount of bone neoformation, lacunae with active osteoblasts and, in some areas, new bone with particles of the material. No residual collagen was in contact with the particles or with inflammatory or fibrous tissue. Residual bone comprised 16.3% of the biopsy specimen volume.

Horowitz et al [24] conducted a similar study to the present investigation, testing the effectiveness of the pre-implant application of β -TCP with blood from the patient and a collagen or PTFE membrane for post-extraction alveolar preservation. They included 30 patients with a mean healing time of 6 months. They reported the clinical outcomes, the alveolar ridge width before extraction and at implant placement surgery, the radiological findings, and the histology and histomorphometry results for trephine biopsy specimens taken during implant placement surgery. The authors reported good clinical outcomes and histological findings of vital bone in the socket with a high percentage of material resorption, achieving primary implant stability and preserving 91% of the pre-extraction socket width.

Ormianer [22] studied the results of immediately loading 1,065 implants inserted simultaneously with graft placement in 338 partially edentulous patients, using β -TCP as biomaterial in postextraction sockets, among other measures; and reporting an implant survival rate of 97.6% after a mean follow-up of 19.2 months.

Other materials have been used for alveolar ridge preservation, such as allografts. In 2003, Lasella et al [26] conducted a randomized, controlled and blinded clinical study to compare the loss of alveolar bone (height and width) at 6 months post-extraction between the use and non-use of allograft and collagen membrane for alveolar preservation. The allograft/collagen membrane group achieved significantly better preservation of the original height and width and showed more abundant new bone in biopsy specimens.

We mixed β -TCP with saline solution or blood from the patient, as in the study by Horowitz et al [24], given the difficulty of managing this porous material in granular form [27]. Our biomaterial was readily identifiable on X-ray, being much denser than the adjacent bone, as previously reported by Von Doernberg et al [28]. This characteristic is useful for the radiographic follow-up of healing, because the radiopacity changes as the material is resorbed and substituted by new bone, giving rise to a radiological image of normal trabecular bone.

We selected six months as bone healing time, in common with most authors using β -TCP in oral implantology [19, 24], because most of the ceramic is resorbed, and the grafted tissue can be considered sufficiently stable for functional implant loading. A study in pigs [29] found β -TCP degradation to be slow, with 80% of the material resorbed at 28 weeks and 97% at 86 weeks; therefore, the authors recommended an interval of 5-6 months before implant placement in grafted areas, concluding that the cell response to their simultaneous placement could damage implant osseointegration. Some authors suggested lengthening this healing time in order to increase implant stability [4], and it was found that the presence of residual particles at 9 months does not compromise implant placement [23]. In contrast, as reported above, Ormianer et al. achieved a 97% success rate after the immediate placement of implants in augmented areas and their immediate implant loading [22].

With regard to the mechanism of β -TCP degradation before its substitution by bone, it was attributed by Wiltfang et al [29] to chemical hydrolysis (halisteresis) and the activity of phagocytic cells (multinucleated giant cells). Two degradation pathways have since been described: osteoclast-mediated resorption and dissolution in interstitial fluid [23]. A study in 2005 detected no osteoclastic activity in biopsies from sinuses augmented with this biomaterial; which does not rule out the participation of osteoclasts but suggests that it is limited [30]. Besides these two mechanisms, it has been postulated that β -TCP resorption may also be mediated by cells other than osteoclasts [20]. However, Martinez et al [31] suggest that osteoclasts or macrophage cells may not play an important role in β -TCP resorption, as they found in the bone- β -TCP interface cells of the reticuloendothelial system.

We experienced some problems in removing the biopsy specimen from the trephine for histological study, therefore we modified the protocol, processing the trephine with the sample as a block. Zerbo [32] also found it difficult to remove β -TCP biopsies in a single piece from trephine, and Suba [20] reported that biomaterial particles frequently broke during sample preparation. Other problems were the loss of three biopsies in the polishing process, due to the complexity of sample processing; and taking a biopsy of an incorrect zone, which some authors have solved using surgical guides [33].

With the limitations of this research and taking into account the small sample used, we can say that our histological and clinical results are in line with reports by various authors (Table 6), evidencing problem-free healing, primary stability of implants placed in the augmented area, and an adequate substitution of β -TCP particles by newly formed bone at 6 months. As lines of research for the future, it may suggest studies with larger numbers of cases and make measurements of the width of the ridge at the beginning and end of the gauge or by using CAT

scans, and to evaluate if the alveolar preservation technique is suitable or not and to measure the degree of alveolar resorption occurs. It would also be interesting studies that combine β -tricalcium phosphate with cells, BMPs or growth factors, since it seems that the biomaterial has characteristics that make it a very appropriate vehicle for this type of techniques.

5. CONCLUSIONS

1. The clinical outcomes of this procedure are satisfactory, with no associated complications. The material is highly radiopaque on X-ray, with no alterations.
2. The organism responds to the placement of β -TCP in the socket, resulting in its partial filling with bone at six months post-extraction.
3. The maturation and mineralization of the bone formed in the socket is as expected for a healing time of 6 months, with the presence of osteoblastic activity and bone lacunae containing osteocytes.
4. The biomaterial is not completely resorbed at six months, when abundant remains are in direct contact with or surrounded by newly formed bone and disappear at the same rate as that of new bone formation.
5. There is close contact between patient bone and biomaterial particles at 6 months, and no interface can be observed between them.

6. ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by an FPU training grant for university professors from the Spanish Ministry of Education (nº AP2008-00011) and by a project of Universidad-Empresa Foundation (47/2009) signed with Keramat.

7. REFERENCES

1. Allegrini S Jr, Koenig B Jr, Allegrini MR, Yoshimoto M, Gedrange T, Fanghaenel J et al. Alveolar ridge sockets preservation with bone grafting-review. *Ann Acad Med Stetin*. 2008;54(1):70-81.
2. Khan Y, Yaszemski MJ, Mikos AG, Laurencin CT. Tissue engineering of bone: material and matrix considerations. *J Bone Joint Surg Am*. 2008;90 Suppl 1:36-42.
3. Tripplet RG, Schow SR, Laskin DM. Oral and maxillofacial surgery advances in implant dentistry. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000;15:47-55.
4. Zijdeveld SA, Zerbo IR, van der Bergh JPA, Schulten EAJM, ten Bruggenkate CM. Maxillary sinus floor augmentation using a beta-tricalcium phosphate (Cerasorb) alone compared to autogenous bone grafts. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2005;20:432-40.
5. Darby I, Chen S, De Poi R. Ridge preservation: what is it and when should it be considered. *Aust Dent J*. 2008;53(1):11-21.
6. Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury*. 2005;36 Suppl 3:S20-7.

7. Deppe H, Horch H, Neff A. Conventional versus CO₂ laser-assisted treatment of peri-implant defects with the concomitant use of pure-phase β -tricalcium phosphate: a 5-year clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007;22:79-86.
8. Franch J, Díaz-Bertrana C, Lafuente P, Fontecha P, Durall I. Beta-tricalcium phosphate as a synthetic cancellous bone graft in veterinary orthopaedics. A retrospective study of 13 clinical cases. *Vet Comp Orthop Traumatol*. 2006;19(4):196-204.
9. Gan Y, Dai K, Zhang P, Tang T, Zhu Z, Lu J. The clinical use of enriched bone marrow stem cells combined with porous beta-tricalcium phosphate in posterior spinal fusion. *Biomaterials*. 2008;29(29):3973-82.
10. Liu G, Zhao L, Cui L, Liu W, Cao Y. Tissue-engineered bone formation using human bone marrow stromal cells and novel beta-tricalcium phosphate. *Biomed Mater*. 2007;2(2):78-86.
11. Allabouch A, Colat-Parros J, Salmon R, Naim S, Meunier JM. Biocompatibility of some materials used in dental implantology: histological study. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 1993;1:323-9.
12. Aybar B, Bilir A, Akçakaya H, Ceyhan T. Effects of tricalcium phosphate bone graft materials on primary cultures of osteoblast cells *in vitro*. *Clin Oral Impl Res*. 2004;15(1):119-25.
13. Byun H, Wang H. Sandwich bone augmentation using recombinant human platelet-derived growth factor and beta-tricalcium phosphate alloplast: case report. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2008;28:83-7.
14. Alam S, Ueki K, Marukawa K, Ohara T, Hase T, Takazakura D et al. Expression of bone morphogenetic protein 2 and fibroblast growth factor 2 during bone regeneration using different implant materials as onlay bone graft in rabbit mandibles. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007;103:16-26.
15. Boix D, Weiss P, Gauthier O, Guicheux J, Bouler JM, Pilet P et al. Injectable bone substitute to preserve alveolar ridge resorption after tooth extraction : a study in dog. *J Mater Sci Mater Med*. 2006;17:1145-52.
16. Fiorellini JP, Kim DM, Nakajima Y, Weber HP. Osseointegration of titanium implants following guided bone regeneration using expanded polytetrafluoroethylene membrane and various bone fillers. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2007;27:287-94.
17. Masago H, Shibuya Y, Munemoto S, Takeuchi J, Umeda M, Komori T et al. Alveolar ridge augmentation using various bone substitutes--a web form of titanium fibers promotes rapid bone development. *Kobe J Med Sci*. 2007;53(5):257-63.
18. Suba Z, Takács D, Gyulai-Gaál S, Kovács K. Facilitation of beta-tricalcium phosphate-induced alveolar bone regeneration by platelet-rich plasma in beagle dogs: a histologic and histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2004;19:832-8.
19. Horch HH, Sader R, Pautke C, Neff A, Deppe H, Kolk A. Synthetic, pure-phase beta-tricalcium phosphate ceramic granules (Cerasorb) for bone regeneration in the reconstructive surgery of the jaws. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2006;35(8):708-13.

20. Suba Z, Takács D, Matusovits D, Barabás J, Fazekas A, Szabó G. Maxillary sinus floor grafting with beta-tricalcium phosphate in humans : density and microarchitecture of the newly formed bone. *Clin Oral Impl Res.* 2006;17:102-8.
21. Szabó G, Huys L, Coulthard P, Maiorana C, Garagiola U, Barabas J et al. A prospective multicenter randomized clinical trial of autogenous bone versus beta-tricalcium phosphate graft alone for bilateral sinus elevation: histologic and histomorphometric evaluation. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005;20:371-81.
22. Ormianer Z, Palti A, Shifman A. Survival of immediately loaded dental implants in deficient alveolar bone sites augmented with beta-tricalcium phosphate. *Implant Dent.* 2006;15:395-403.
23. Brkovic BM, Prasad HS, Konandreas G, Milan R, Antunovic D, Sándor GK et al. Simple preservation of a maxillary extraction socket using beta-tricalcium phosphate with type I collagen: preliminary clinical and histomorphometric observations. *J Can Dent Assoc.* 2008;74(6):523-8.
24. Horowitz RA, Mazor Z, Miller RJ, Krauser J, Prasad HS, Rohrer MD. Clinical evaluation of alveolar ridge preservation with a beta-tricalcium phosphate socket graft. *Compend Contin Educ Dent.* 2009 Nov-Dec;30(9):588-90, 592, 594 passim; quiz 604, 606
25. Araújo MG, Liljenberg B, Lindhe J. beta-Tricalcium phosphate in the early phase of socket healing: an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21(4):445-54.
26. Iasella JM, Greenwell H, Miller RL, Hill M, Drisko C, Bohra AA et al. Ridge preservation with freeze-dried bone allograft and a collagen membrane compared to extraction alone for implant site development: a clinical and histologic study in humans. *J Periodontol.* 2003;74(7):990-9.
27. Walsh WR, Vizesi F, Michael D, Auld J, Langdown A, Oliver R et al. Beta-TCP bone graft substitutes in a bilateral rabbit tibial defect model. *Biomaterials.* 2008;29(3):266-71.
28. von Doernberg MC, von Rechenberg B, Böhner M, Grünenfelder S, van Lenthe GH, Müller R et al. In vivo behavior of calcium phosphate scaffolds with four different pore sizes. *Biomaterials.* 2006;27(30):5186-98.
29. Wiltfang J, Merten HA, Schlegel KA, Schultze-Mosgau S, Kloss FR, Rupprecht S et al. Degradation characteristics of alpha and beta tri-calcium-phosphate (TCP) in minipigs. *J Biomed Mater Res.* 2002;63(2):115-21.
30. Zerbo IR, Bronckers AL, de Lange G, Burger EH. Localisation of osteogenic and osteoclastic cells in porous beta-tricalcium phosphate particles used for human maxillary sinus floor elevation. *Biomaterials.* 2005;26(12):1445-51.
31. Martinez A, Franco J, Saiz E, Guitian F. Maxillary sinus floor augmentation on humans: Packing simulations and 8 months histomorphometric comparative study of anorganic bone matrix and β -tricalcium phosphate particles as grafting materials. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2010 Jun 15;30(5):763-9.

32. Zerbo IR, Zijderveld SA, de Boer A, Bronckers AL, de Lange G, ten Bruggenkate CM et al. Histomorphometry of human sinus floor augmentation using a porous beta-tricalcium phosphate: a prospective study. Clin Oral Implants Res. 2004;15(6):724-32.
33. Brkovic BM, Prasad HS, Rohrer MD, Konandreas G, Agrogiannis G, Antunovic D, Sándor GK. Beta-tricalcium phosphate/type I collagen cones with or without a barrier membrane in human extraction socket healing: clinical, histologic, histomorphometric, and immunohistochemical evaluation. Clin Oral Investig. 2011; doi: 10.1007/s00784-011-0531-1.

8. TABLES

TABLE 1. Animal studies with TCP				
AUTHOR AND YEAR	SPECIES	TECHNIQUE	TIME AND VARIABLES STUDIED	MAIN CONCLUSIONS
Suba 2004	Dogs	Alveolar preservation	6, 12 and 24 weeks. Histomorphometry	Complete bone regeneration
Boix 2006	Dogs	Alveolar preservation	3 months. Histomorphometry	Preservation of alveolar margin integrity
Masago 2007	Rabbits	Maxillary defects	1, 2 and 5 months. Histology	β -TCP is resorbed completely in 5 months, giving rise to viable new bone
Alam 2007	Rabbits	Mandibular defects	2, 4, 8, 12 and 24 weeks. Histology, histomorphometry and immunohistochemistry	β -TCP induces bone formation, very slow resorption.
Fiorellini 2007	Dogs	Surgically-produced mandibular defects	5 months. Histology and Histomorphometry.	65% bone-implant contact percentage. Implant success

TABLE 2. Studies conducted on humans with TCP.			
AUTHOR AND YEAR	TECHNIQUE	TIME AND VARIABLES STUDIED	MAIN CONCLUSIONS
Horch 2006	Cystectomies, alveolar fissures, periodontal defects and sinus elevation	4, 12 and 52 weeks. Clinical outcomes, radiology, histology and ultrasonography	β TCP is a good material to fill in bone defects in the alveolar region
Ormianer 2006	Immediate loading of 1065 implants in augmented areas	19.2 months. Clinical outcomes	97.6% implant survival
Szabó 2005	Sinus elevation	6 months Radiology, histology and histomorphometry	Adequate bone regeneration and height (same as autogenous bone)
Zijderveld 2005	Sinus elevation	12 months. Clinical outcomes	100% implant success using β TCP vs. autogenous
Suba 2006	Sinus elevation	6 months Histology and histomorphometry	Adequate bone regeneration and height (same as autogenous bone)

TABLE 3. VARIABLES RELATED TO THE INDIVIDUAL				
	MEAN	STANDARD DEVIATION	FEMALES	MALES
AGE (YRS)	44.3	10.74	48	39.7
SEX			9 (56.25%)	7 (43.75%)
SMOKERS (1-9 cigs/day)			2 (12%)	0 (0%)
DRINKERS			0 (0%)	0 (0%)

TABLE 4. DESCRIPTIVE STATISTICS OF HISTOMORPHOMETRIC VARIABLES					
Variable (%)	Minimum value	Maximum value	Mean	Median	Standard deviation
Newly formed bone area	0.30	45.33	20.15	13.64	15.42
Immature bone area	8.34	31.80	20.07	20.07	16.58
Old bone area	0.43	21.03	11.98	11.87	7.65
Biomaterial area	0.33	26.25	11.40	7.99	8.88
Lamellar bone area	2.02	6.11	4.06	4.06	2.89
Bone-implant contact index	0	69.7	32.31	19.82	24.94
Remnant volume	0	98.85	31.98	35.6	25.68
Immature bone-mature bone relationship	0	96.07	42.62	36.13	36.48

TABLE 5. 95% CONFIDENCE INTERVALS			
Variable	Upper interval limit	Lower interval limit	Statistical significance
Newly formed bone area	29.95	10.35	Significant
Immature bone area	169.11	-128.97	Not significant
Old bone area	19.06	4.91	Significant
Biomaterial area	18.23	4.58	Significant
Lamellar bone area	30.04	-21.92	Not significant
Bone-implant contact index	46.12	18.49	Significant
Remnant volume	46.20	17.76	Significant
Immature bone:mature bone ratio	63.69	21.56	Significant

TABLE 6. RESULTS OF STUDIES WITH β -TCP					
AUTHOR AND YEAR	MATERIAL/S	TECHNIQUE	TYPE OF VARIABLES	TIME	CONCLUSIONS
Brkovic 2008	TCP + collagen	Alveolar P.	CL, XR, Hist	9 months	Good outcome. OC.
Horowitz 2009	TCP	Alveolar P.	CL, XR, Hist	6 months	Good outcome.
Ormianer 2006	TCP	Various	CL	19,2 months	97.6% implant success.
Brkovic 2011	TCP + collagen	Alveolar P.	CL, XR, Hist	9 months	Good regeneration.
Horch 2006	TCP /TCP+A.B	Bone defects	CL, XR, Hist	12 months	Good outcomes.
Suba 2006	TCP / A.B	Sinus aug.	CL, Hist	6 months	Good regeneration.
Szabó 2005	TCP / A.B	Sinus aug .	CL, Hist	6 months	Good regeneration.
Zijdeveld 2005	TCP / A.B	Sinus aug .	Hist	6 months	Good regeneration.
Zerbo 2004	TCP / A.B	Sinus aug .	Hist	6 months	Good outcome. OC.
LEGEND: TCP: Tricalcium phosphate; A.B: autogenous bone; CL: clinical; XR: radiological; Hist: histological; OC: osteoconduction; aug. = augmentation					

FIGURE LEGENDS

Figure 1. Socket filled with mixture of β -TCP and patient blood.

Figure 2. Abundant bone newly formed around the biomaterial, sometimes encompassing its fragments. There is little resorption, except for faint signs in the central area of the biopsy. Most of the bone is new, with traces of old bone at the periphery. Levai-Laczko stain. 40X

Figure 3. Material integrated in the bone; there is a predominance of lax conjunctive tissue, although with areas of denser conjunctive tissue. The biomaterial is integrated in bone trabeculae, although there is a predominance of conjunctive tissue in the sample. Levai-Laczko stain. 40X

Figure 4: Frequency histograms for the newly formed bone area, biomaterial area and bone-implant contact index (abscissas = percentages; ordinates = n° cases).

10. TRABAJOS PUBLICADOS EN EL PERIODO DE BECA FPU

10. TRABAJOS PUBLICADOS EN EL PERIODO DE BECA FPU

Trullenque-Eriksson A, Muñoz-Corcuera M, Campo-Trapero J, Cano-Sánchez J, Bascones-Martínez A. Analysis of new diagnostic methods in suspicious lesions of the oral mucosa. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009 May 1;14(5):E210-6. PMID:19218907 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Factor de impacto año 2010: 1,071 (52/77 Dentistry)

Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2009 May 1;14 (5):E210-6.

New diagnostic methods in oral mucosa

Journal section: Oral Medicine and Pathology

Publication Types: Review

Analysis of new diagnostic methods in suspicious lesions of the oral mucosa

Anna Trullenque-Eriksson ¹, Marta Muñoz-Corcuera ¹, Julián Campo-Trapero ², Jorge Cano-Sánchez ², Antonio Bascones-Martínez ²

¹ Dentistry graduate. Student of the Official Master in Dentistry Science. Universidad Complutense de Madrid

² Department of Medicine and Buccofacial Surgery. Faculty of Dentistry. Universidad Complutense Madrid

Correspondence:
Departamento de Medicina y Cirugía Bucofacial
Facultad de Odontología. UCM
Avda Complutense s/n
28080 (Madrid) Spain
jcampo@odon.ucm.es

Trullenque-Eriksson A, Muñoz -Corcuera M, Campo-Trapero J, Cano-Sánchez J, Bascones-Martínez A. Analysis of new diagnostic methods in suspicious lesions of the oral mucosa. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009 May 1;14 (5):E210-6.
<http://www.medicinaoral.com/medoralfree01/v14i5/medoralv14i5p210.pdf>

Received: 07/05/2008
Accepted: 07/11/2008

Article Number: 5123658843 <http://www.medicinaoral.com/>
© Medicina Oral S. L. C.I.F. B 906893316 - pISSN 1698-4447 - eISSN: 1698-0946
eMail: medicina@medicinaoral.com
Indexed in:
-SCI EXPANDED
-JOURNAL CITATION REPORTS
-Index Medicus / MEDLINE / PubMed
-EMBASE, Excerpta Medica
-SCOPUS
-Índice Médico Español

Abstract

Objective: The objective of this study was to analyse publications related to examination techniques that might improve the visualisation of suspicious lesions of the oral mucosa (ViziLite® system and VELscope® system) or that might facilitate the cytological identification of suspicious lesions (OralCDx®).

Methods: A literature search was performed, using the PubMed database and the key words "brush biopsy", "Oral-CDx", "ViziLite" and "Velscope", limiting the search to papers in English or Spanish published from 2002 to 2008.

Results: According to the results of studies identified, the ViziLite® system has a sensitivity of 100% and specificity ranging from 0-14.2%, the VELscope® system has a sensitivity of 98-100% and specificity of 94-100% and the Oral CDx® system has a sensitivity of 71.4-100% and specificity of 32-100%.

Conclusion: Clinical examination and histopathological confirmation with biopsy remain the gold standard for the detection of oral cancer. More randomised controlled studies are needed to confirm the positive cost-benefit relationship and the true usefulness of these "new diagnostic methods" in oral mucosal pathology.

Key words: ViziLite, VELscope, OralCDx, brush biopsy, oral cancer, precancer, diagnosis.

Introduction

Oral cancer is the sixth most frequent malignant tumour (1), with around 500,000 cases worldwide (2). Although the morbidity and mortality of other types of cancer have decreased over the past few decades, the same is not true for oral cancer. Its treatment can be easy and unaggressive when the diagnosis is early, with a survival rate of around 80% (3). Nevertheless, around 50% of diagnosed patients die within five years (4). One-third of patients diagnosed with a malignant oral neoplasm report that they were examined during the

three years before the diagnosis (5). Consequently, oral health professionals play an important role in the early detection of malignant and premalignant conditions and could make a considerable contribution to a decrease in its incidence by identifying high risk patients and educating them in healthy habits (6,7).

At present, the main approach to detect epithelial changes in oral mucosa is a combination of visual examination and palpation (6,8,9). Unfortunately, routine examination for the detection of oral cancer is not practiced as frequently as would be desirable (7,9,10).

Muñoz-Corcuera M, Esparza-Gómez G, González-Moles MA, Bascones-Martínez A. Oral ulcers: clinical aspects. A tool for dermatologists. Part I. Acute ulcers. Clin Exp Dermatol. 2009 Apr;34(3):289-94. PMID: 19309371 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Factor de impacto año 2010: 1.267 (26/55 Dermatology)

Clinical dermatology • Review article

Clinical and Experimental Dermatology

Oral ulcers: clinical aspects. A tool for dermatologists. Part I. Acute ulcers

M. Muñoz-Corcuera, G. Esparza-Gómez, M. A. González-Moles* and A. Bascones-Martínez*

Stomatology Department, Dental School, Complutense University of Madrid, Spain; and *Department of Oral Medicine and Periodontics, Complutense University of Madrid, Spain

doi:10.1111/j.1365-2230.2009.03220.x

Summary

Oral ulcers are generally painful lesions that are related to various conditions developing within the oral cavity. They can be classified as acute or chronic according to their presentation and progression. Acute oral ulcers are associated with conditions such as trauma, recurrent aphthous stomatitis, Behçet's disease, bacterial and viral infections, allergic reactions or adverse drug reactions. Chronic oral ulcers are associated with conditions such as oral lichen planus, pemphigus vulgaris, mucosal pemphigoid, lupus erythematosus, mycosis and some bacterial and parasitic diseases. The correct differential diagnosis is necessary to establish the appropriate treatment, taking into account all the possible causes of ulcers in the oral cavity. In the first part of this two-part review, acute oral ulcers are reviewed.

Introduction

Ulcers have several causes and are characterized by a loss of tissue that affects both the epithelium and underlying connective tissue.^{1,2} They are very common in the oral mucosa³ and are generally painful.²

In establishing a diagnosis, it is important to know the relative frequency or prevalence of these lesions in the particular time and place. In 1976, Axéll found that the most common lesions of the oral mucosa in Sweden were ulcers (aphthae) associated with recurrent aphthous stomatitis, followed by those associated with recurrent herpes labialis, prosthesis-induced stomatitis and geographical tongue.⁴ In 2004, Shulman *et al.*⁴ reported that the most common lesions in the USA were related to dental prostheses, although the prevalence of different lesion types varied according to age, gender, ethnicity and tobacco consumption.

Classification

Oral ulcers are classified into two main groups:^{2,5} acute ulcers with abrupt onset and short duration (Table 1), and chronic ulcers with slow onset and insidious progression. There is no consensus about the duration that determines when an oral ulcer has become chronic, but is generally accepted that if the ulcer lasts for > 2 weeks, it can be considered as a chronic ulcer. In this first review, acute oral ulcers are described; chronic oral ulcers will be discussed in the second review.

Acute oral ulcers

Traumatic ulcer

These very common ulcers usually appear in short, painful episodes.² The most common causative agents are trauma, chemicals, electricity and heat.

Trauma, such as that caused by sharp teeth and tooth edges, can produce ulcers. Self-inflicted lesions can sometimes be observed in the oral mucosa of children and of patients with mental disorders.⁶⁻⁸ Self-induced traumatic ulcers can also be caused by incorrect tooth brushing⁹ and by postanaesthesia biting of the tongue or lower lip (Fig. 1).² Decubitus

Correspondence: Dr Antonio Bascones-Martínez, Facultad de Odontología, Universidad Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid, Spain.
E-mail: antbasco@odon.ucm.es

Conflict of interest: none declared.

Accepted for publication 15 October 2008

Muñoz-Corcuera M, Esparza-Gómez G, González-Moles MA, Bascones-Martínez A. Oral ulcers: clinical aspects. A tool for dermatologists. Part II. Chronic ulcers. Clin Exp Dermatol. 2009 Jun;34(4):456-61. Epub 2009 Apr 14. PMID: 19522982 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Factor de impacto año 2010: 1.267 (26/55 Dermatology)

Clinical dermatology • Review article

Clinical and Experimental Dermatology

Oral ulcers: clinical aspects. A tool for dermatologists. Part II. Chronic ulcers

M. Muñoz-Corcuera, G. Esparza-Gómez, M. A. González-Moles* and A. Bascones-Martínez*

*Stomatology Department, Dental School, Complutense University of Madrid, Madrid, Spain; and *Department of Oral Medicine and Periodontics, Complutense University of Madrid, Madrid, Spain*

doi:10.1111/j.1365-2230.2009.03219.x

Summary

Oral ulcers are generally painful lesions that are related to various conditions developing within the oral cavity. They can be classified as acute or chronic according to their presentation and progression. Acute oral ulcers are associated with conditions such as trauma, recurrent aphthous stomatitis, Behçet's disease, bacterial and viral infections, allergic reactions or adverse drug reactions. Chronic oral ulcers are associated with conditions such as oral lichen planus, pemphigus vulgaris, mucosal pemphigoid, lupus erythematosus, mycosis and some bacterial and parasitic diseases. The correct differential diagnosis is necessary to establish the appropriate treatment, taking into account all the possible causes of ulcers in the oral cavity. In this second part of this two-part review, chronic oral ulcers are reviewed.

Introduction

Ulcers are secondary lesions characterized by a loss of tissue. They affect both the epithelium and underlying connective tissue,^{1,2} and are very common lesions of the oral mucosa.³

Classification

Oral ulcers are classified into two main groups:^{2,4} acute ulcers with abrupt onset and short duration, and chronic ulcers with slow onset and insidious progression (Table 1). It is generally accepted that if the ulcer lasts for > 2 weeks, it can be considered as a chronic ulcer. In the first part of this review, we discussed acute oral ulcers, and in this second part, we move on to discuss chronic oral ulcers.

Chronic oral ulcers

Drug-induced oral ulcers

Although adverse drug reactions present more commonly with cutaneous features, they have also been documented as affecting the oral mucosa.^{5,6} Drug-induced oral ulcers are usually single, isolated and located on the side of the tongue, and may be surrounded by an erythematous halo. They are relatively resistant to the usual treatments and can become chronic.²

Drugs reported to induce oral ulcers include some beta-blockers (labetalol),⁷ immunosuppressants (mycophenolate),^{7,8} anticholinergic bronchodilators (tiotropium),⁹ platelet aggregation inhibitors (clopidogrel),¹⁰ vasodilators (nicorandil),^{5,7,11} bisphosphonates (alendronate),⁷ protease inhibitors,⁷ antibiotics, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, antiretrovirals, antirheumatics and antihypertensives (enalapril, captopril).⁵⁻⁷ In most cases, the mechanism by which these drugs produce oral ulcers has not been elucidated.⁷

A good differential diagnosis is important in these cases, and doctors should be aware of any new pharmaceutical drugs that may cause this type of

Correspondence: Dr Antonio Bascones-Martínez, Facultad de Odontología, Universidad Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid, Spain.

E-mail: antbasco@odon.ucm.es

Conflict of interest: none declared.

Accepted for publication 15 October 2008

Bascones-Martínez A, Muñoz-Corcuera M, Noronha S, Mota P, Bascones-Ilundain C, Campo-Trapero J. Host defence mechanisms against bacterial aggression in periodontal disease: Basic mechanisms. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009 Dec 1;14(12):e680-5. PMID: 19680192 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Factor de impacto año 2010: 1,071 (52/77 Dentistry)

Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2009 Dec 1;14(12):e680-5.

Basic defence mechanisms in periodontal disease

Journal section: Periodontology

doi:10.4317/medoral.14.e680

Publication Types: Review

Host defence mechanisms against bacterial aggression in periodontal disease: Basic mechanisms

Antonio Bascones-Martínez¹, Marta Muñoz-Corcuera¹, Susana Noronha¹, Paula Mota², Cristina Bascones-Ilundain¹, Julián Campo-Trapero¹

¹ School of Dentistry, Madrid Complutense University, Spain

² School of Dentistry, Instituto Superior de Ciências da Saúde, Portugal

Correspondence:
Departamento Medicina y Cirugía Bucofacial.
Facultad de Odontología
Universidad Complutense de Madrid
Plaza Ramón y Cajal, s/n.
28040 Madrid, Spain
antbasco@odon.ucm.es

Bascones-Martínez A, Muñoz-Corcuera M, Noronha S, Mota P, Bascones-Ilundain C, Campo-Trapero J. Host defence mechanisms against bacterial aggression in periodontal disease: Basic mechanisms. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009 Dec 1;14(12):e680-5.
<http://www.medicinaoral.com/medoralfree01/v14i12/medoralv14i12p680.pdf>

Article Number: 2679 <http://www.medicinaoral.com/>
© Medicina Oral S. L. C.I.F. B 96639236 - pISSN 1698-4447 - eISSN: 1698-6946
eMail: medicina@medicinaoral.com
Indexed in:
-SCIEXPANDED
-JOURNAL CITATION REPORTS
-Index Medicus / MEDLINE / PubMed
-EMBASE, Excerpta Medica
-SCOPUS
-Indice Médico Español

Received: 25/01/2009
Accepted: 20/05/2009

Abstract

Periodontal diseases are complex bacteria-induced infections characterised by an inflammatory host response to plaque microbiota and their by-products. Most of these microorganisms have virulence factors capable of causing massive tissue destruction both directly, through tissue invasion and the production of harmful substances, or indirectly, by activation of host defense mechanisms, creating an inflammatory infiltrate of potent catabolic activity that can interfere with normal host defense mechanisms. In response to the aggression, host defense mechanisms activate innate and adaptive immune responses. Our aim is to offer a general overview of the main mechanisms involved in the host response to bacterial aggression in periodontitis, such as lipopolysaccharide receptor CD14, complement system, polymorphonuclear neutrophils, antibodies and immunoglobulins.

Key words: Periodontitis, humoral response, lipopolysaccharide, neutrophils, CD14.

Introduction

Periodontitis is a complex infection of bacterial origin in which multiple factors are implicated. It is characterised by an inflammatory host response against microorganisms of the bacterial plaque and their products (1). Most of these microorganisms can produce tissue destruction (1, 2) in two ways: (i) directly, through invasion of the tissues and the production of harmful substances that induce cell death and tissue necrosis; and (ii) indirectly, through activation of inflammatory cells that can produce and release mediators that act on effectors, with potent proinflammatory and catabolic activ-

ity. This action plays a crucial role in the destruction of periodontal tissue, while some bacteria also interfere with the normal host defence mechanism by deactivating specific antibodies or inhibiting the action of phagocyte cells (3).

The pathogenesis of periodontal destruction involves the sequential activation of different components of the host immune and inflammatory response, aimed in the first place at defending the tissues against bacterial aggression, reflecting the essentially protective role of the response. However, it also acts as a mediator of this destruction (4).

Bascones-Martínez A, Muñoz-Corcuera M, Meurman JH. Odontogenic infections in the etiology of infective endocarditis. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 2009 Dec;9(4):231-5. PMID: 19751184 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Cardiovascular & Haematological Disorders-Drug Targets. 2009, 9, 159-166

1

Odontogenic Infections in the Etiology of Infective Endocarditis

Antonio Bascones-Martínez^{1,*}, Marta Muñoz-Corcuera² and Jukka H. Meurman³

¹Facultad de Odontología, Universidad Complutense de Madrid, Spain; ²Facultad de Odontología, Universidad Complutense de Madrid, Spain; ³Institute of Dentistry, University of Helsinki, and Department of Oral and Maxillofacial Diseases, Helsinki University Central Hospital, Finland

Abstract: Revised guidelines for the prevention of infective endocarditis published by the American Heart Association in 2007 do not support the indiscriminate use of antibiotic prophylaxis for dental procedures. However, they still recommend the use of prophylaxis for high-risk patients before dental treatments likely to cause bleeding. Given the high prevalence of bacteremia of dental origin due to tooth-brushing, mastication or other daily activities, it appears unlikely that infective endocarditis from oral microorganisms can be completely prevented. A good oral health status and satisfactory level of oral hygiene are sufficient to control the consequences of the systemic spread of oral microorganisms in healthy individuals. However, caution is still needed and prophylactic antibiotics must be administered to susceptible or medically compromised patients. This review briefly outlines the current concepts of odontogenic bacteraemia and antibiotic prophylaxis for patients undergoing dental treatment.

INTRODUCTION

Infective endocarditis (IE) is an inflammatory disease of the parietal and/or valvular endocardium secondary to infectious phenomena that can have severe consequences for the individual. The incidence of IE varies in populations from around 2 to 6 cases per 100 000 person years, and males are more often affected than females. The common risk factors for IE include mitral valve prolapse, degenerative valvular disease, intravenous drug use, prosthetic valves, and congenital abnormalities of the heart such as valvular or septal defects. IE risk factors that are less common today include the previously highly prevalent rheumatic heart disease, idiopathic hypertrophic subaortic stenosis, pulmonary-systemic shunts, coarctation of aorta, previous endocarditis, and complex cyanotic congenital heart diseases [1].

In 90% of cases of community-acquired native IE, the causative microorganisms are staphylococci, streptococci, or enterococci [1]. Viridans group streptococci are the main cultivable bacterial flora in the mouth gaining readily access to the blood circulation at or after dental treatment. Hence, IE of dental origin is largely due to the *Streptococcus viridans* group. These microorganisms can cause bacteraemia in both the presence and absence of a dental procedure, due to an epithelial disruption that allows the bacteria to pass into the bloodstream. Antibiotics reduce the prevalence and magnitude of bacteraemia and prevent bacterial adhesion to the endocardium [2]. Therefore antibiotic prophylaxis has been recommended before dental procedures for patients at risk of IE [3]. This procedure is currently under discussion by various authors and associations [4-7], and the latest widely accepted recommendations by the American Heart Association (AHA) have raised doubts about the efficacy of this prophylactic measure [8, 9].

A review of the available literature on this issue from 1950 to June 2008 found insufficient evidence to determine whether antibiotic prophylaxis is effective or not in the prevention of bacterial endocarditis [10].

There has been an increase over the past few years in the number of antibiotic-resistant microorganisms in the oral cavity hence reducing the efficacy of antibiotics that were previously used with success [11, 12]. The large amount of antibiotics consumed in dentistry, representing up to 10% of the total antibiotic intake in the community, may play a role in the development of resistance to these drugs [2, 7, 13]. Furthermore, the use of antibiotics is not risk-free. For example, it has been reported that 2.9% of adverse drug reactions are due to the intake of amoxicillin, including anaphylactic reactions, skin reactions, gastrointestinal and hepatic disorders, and hematologic complications. A greater indiscriminate administration of antibiotics makes it more likely that the risk of adverse reaction to antibiotics will be greater than the risk of developing IE [4, 7].

Nevertheless, given the high mortality associated with IE, the recommended indications for antibiotic prophylaxis are generally exceeded in many countries, largely due to tradition based mainly on the fear of medical-legal repercussions [4, 5].

MICRO-ECOLOGY OF THE MOUTH IN THE PERSPECTIVE OF ENDOCARDITIS

The oral cavity is an ideal habitat for microorganisms. There is an optimum temperature of 37°C in the mouth, adequate moisture, a frequent supply of nutrients, and a variety of different surfaces for microbial attachment. More than 1000 microbial species have been identified in the oral microbiota, and it is estimated that each individual carries 200-300 species in his/her oral cavity at any given time [14]. Microorganisms are found free in saliva or on mucosal surfaces and organized in supra- and sub-lingival dental plaque

*Address correspondence to this author at the Facultad de Odontología, Universidad Complutense de Madrid (UCM), Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040. Madrid, Spain; Tel: 91 394 20 19; E-mail: antbasco@odon.ucm.es

Bascones-Martínez A, Muñoz-Corcuera M, Cerero-Lapiedra R, Bascones-Ilundáin J, Esparza-Gómez G. Case report of necrotizing sialometaplasia. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011 Sep 1;16(6):e700-3. PMID: 21217621 [PubMed - in process]

Factor de impacto año 2010: 1,071 (52/77 Dentistry)

Med Oral Patol Oral Cir Bucal-AHEAD OF PRINT

Necrotizing sialometaplasia

Journal section: Oral Medicine and Pathology
Publication Types: Case Report

Case report of necrotizing sialometaplasia

Antonio Bascones-Martínez ¹, Marta Muñoz-Corcuera ², Rocío Cerero-Lapiedra ³, Bascones-Ilundáin J ⁴, Germán Esparza-Gómez ³

¹ Chairman of Oral Medicine and Periodontics. Medicine and Orofacial Surgery Department, School of Dentistry, Complutense University of Madrid, Spain

² Dentistry Graduate, PhD Student. Fellow on Education Department FPU programme, Medicine and Orofacial Surgery Department, School of Dentistry, Complutense University of Madrid, Spain

³ Professor of oral medicine. Medicine and Orofacial Surgery Department, School of Dentistry, Complutense University of Madrid, Spain

⁴ Professor of Endodontics. Conservative Department, School of Dentistry, Complutense University of Madrid Spain

Correspondence:
Departamento de Medicina y Cirugía Bucal
Facultad de Odontología
Universidad Complutense de Madrid, España
Plaza Ramón y Cajal, s/n
28040 Madrid, Spain
antbasco@odon.ucm.es

Abstract

Introduction: Necrotizing sialometaplasia is a rare inflammatory necrotizing reactive process that can involve minor and major salivary glands. Gland tissue ischaemia has been proposed as the aetiology.

Case Report: A 21-year-old woman was referred with a 1-week history of bilateral painful swelling of the palate, with the development of two deep ulcers after the first 3 days. Ulcer edges were elevated but not indurated, and the bases had a necrotic appearance. An incisional biopsy of the margin of one ulcer confirmed the diagnosis of necrotizing sialometaplasia. The ulcers spontaneously healed within 8 weeks without treatment.

Discussion: The clinical and histological similarity between this entity and a malignant lesion implies a risk of unnecessary or inadequate treatment. This case illustrates the need for an incisional biopsy to be analyzed by an experienced pathologist to establish a correct diagnosis.

Key words: Necrotizing sialometaplasia, oral ulcers, minor salivary glands, palate, biopsy.

Introduction

Necrotizing sialometaplasia (NS) was first described in 1973 by Abrams et al. as an inflammatory necrotizing reactive process affecting minor salivary glands of the hard palate (1). They proposed the following histopathological criteria: necrosis of acinary cells of seromucinous glands; squamous metaplasia of salivary ductal

epithelial and acini; pseudoepitheliomatous hyperplasia of the epithelium lining the gland; mucous release; inflammatory response associated with granulation tissue in or around the glands; intact lobular architecture; and histologically benign nuclear morphology, although normal mitoses can sometimes be observed (1).

There have since been numerous case reports of this

Bascones-Martínez A, Muñoz-Corcuera M, Bascones-Ilundain J. [Relationship between odontogenic infections and infective endocarditis.] *Med Clin (Barc)*. 2011 May 30. [Epub ahead of print] Spanish. PMID: 21632067 [PubMed - as supplied by publisher]

Factor de impacto año 2010: 1.413 (64/153 Medicine, general and internal)

Model
MEDCL-1804; No. of Pages 6

ARTICLE IN PRESS

Med Clin (Barc). 2011;xx(x):xxx-xxx



MEDICINA CLÍNICA

www.elsevier.es/medicinaclinica



Revisión

Infecciones orales y endocarditis infecciosa

Antonio Bascones-Martínez*, Marta Muñoz-Corcuera y Jaime Bascones-Ilundain

Departamento de Medicina y Cirugía Bucofacial, Facultad de Odontología, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 13 de febrero de 2011

Aceptado el 31 de marzo de 2011

On-line el xxx

Palabras clave:

Infecciones orales

Endocarditis

Bacteriemia

Infecciones odontogénicas

Profilaxis antibiótica

RESUMEN

Las nuevas directrices de las sociedades nacionales e internacionales publicadas en estos últimos años para la prevención de la endocarditis infecciosa no defienden el uso indiscriminado de la profilaxis antibiótica ante procedimientos dentales. Sin embargo, en algunas de ellas aún se recomienda el uso de profilaxis previa en pacientes con alto riesgo que vayan a someterse a tratamientos dentales que conlleven un sangrado.

Teniendo en cuenta la alta prevalencia de la bacteriemia de origen dental debida a actividades como el cepillado dental o la masticación, parece improbable que se puedan controlar completamente las endocarditis infecciosas producidas por microorganismos de origen oral. En individuos sanos, se debe mantener una buena salud oral y una correcta higiene, y esto será suficiente para poder controlar las consecuencias de los microorganismos orales. En pacientes susceptibles o médicamente comprometidos serán necesarias otras medidas para el control de estas bacterias. Esta revisión repasa los conceptos de la bacteriemia de origen oral y la profilaxis antibiótica para pacientes que van a ser sometidos a tratamiento dental.

© 2011 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Relationship between odontogenic infections and infective endocarditis

ABSTRACT

Revised guidelines for the prevention of infective endocarditis published by national and international associations in the last years do not support the indiscriminate use of antibiotic prophylaxis for dental procedures. However, some of them still recommend its use in high-risk patients before dental treatments likely to cause bleeding.

Given the high prevalence of bacteremia of dental origin due to tooth-brushing, mastication or other daily activities, it appears unlikely that infective endocarditis from oral microorganisms can be completely prevented. A good oral health status and satisfactory level of oral hygiene are sufficient to control the consequences of the systemic spread of oral microorganisms in healthy individuals. However, caution is still needed and prophylactic antibiotics must be administered to susceptible or medically compromised patients. This review briefly outlines the current concepts of odontogenic bacteremia and antibiotic prophylaxis for patients undergoing dental treatment.

© 2011 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La endocarditis infecciosa (EI) es una patología inflamatoria del endocardio parietal y/o valvular secundaria a fenómenos infecciosos, la cual puede tener consecuencias graves para el individuo. Se caracteriza por la presencia de vegetaciones compuestas de plaquetas, fibrina, microorganismos y células inflamatorias. La patogénesis de esta enfermedad engloba una secuencia de eventos:

el flujo sanguíneo turbulento presente en algunas enfermedades cardíacas produce un daño endotelial, que causa un depósito de plaquetas y fibrina, llevando a la formación de una endocarditis trombótica no bacteriana. Si en este momento se produce una bacteriemia, las bacterias pueden adherirse a esta lesión y proliferar, dando lugar a una vegetación, la lesión típica de la EI¹.

La incidencia de la EI varía según las poblaciones de 2 a 6 casos por cada 100.000 habitantes por año, afectando más a los varones que a las mujeres. Los factores de riesgo más frecuentes para sufrir EI incluyen el prolapso de la válvula mitral, la enfermedad valvular degenerativa, el uso de drogas intravenosas, la prótesis valvular y las anomalías congénitas del corazón como defectos

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: antbasco@odon.ucm.es (A. Bascones-Martínez).

Bascones-Martinez A, Munoz-Corcuera M, Bascones-Ilundain C, Esparza-Gómez G. Oral Manifestations of Pemphigus Vulgaris: Clinical Presentation, Differential Diagnosis and Management. *J Clin Exp Dermatol Res*. 2010 1:112. doi:10.4172/2155-9554.1000112

Oral Manifestations of Pemphigus Vulgaris: Clinical Presentation, Differential Diagnosis and Management

Antonio Bascones-Martínez^{1*}, Marta Muñoz-Corcuera², Cristina Bascones-Ilundain¹ and German Esparza-Gómez¹

¹DDS, PhD, Medicine and Bucofacial Surgery Department, Dental School, Complutense University of Madrid, Spain

²DDS, PhD Student, Medicine and Bucofacial Surgery Department, Dental School, Complutense University of Madrid, Spain

Abstract

Pemphigus vulgaris is a chronic autoimmune mucocutaneous disease characterized by the formation of intraepithelial blisters. It results from an autoimmune process in which antibodies are produced against desmoglein 1 and desmoglein 3, normal components of the cell membrane of keratinocytes. The first manifestations of pemphigus vulgaris appear in the oral mucosa in the majority of patients, followed at a later date by cutaneous lesions. The diagnosis is based on clinical findings and laboratory analyses, and it is usually treated by the combined administration of corticosteroids and immunosuppressants. Detection of the oral lesions can result in an earlier diagnosis. We review the oral manifestations of pemphigus vulgaris as well as the differential diagnosis, treatment, and prognosis of oral lesions in this uncommon disease.

Keywords: Pemphigus; Oral mucosa; Autoimmune bullous disease

Introduction

Pemphigus vulgaris (PV) is the most frequently observed member of a group of chronic autoimmune mucocutaneous diseases characterized by the formation of intraepithelial blisters. It is a rare disease (0.1-0.5 cases/100,000 inhabitants/yr), with onset in the fifth or sixth decade of life [1-3]. PV is infrequent in children and adolescents but some cases have been reported, therefore it should be taken into account in the differential diagnosis at these ages [4,5].

As in some other diseases, there is a higher incidence of PV at lower than higher latitudes [6]. It has also been observed more frequently in certain peoples, e.g., Ashkenazi Jews, Mediterranean populations and Asians (especially Indians and Japanese) [4-6], who show some genetic predisposition. A relationship has been found with HLA, especially with certain HLA class II alleles, with implication of HLA-DR4 (DRB1*0402) in Ashkenazi Jews and of HLA-DRw14 (DRB1*1041) and HLA-DQB1*0503 in Mediterranean and Asiatic peoples [1,3,7-9]. HLA class II alleles are critical for antigen recognition by T lymphocytes. HLA class I alleles may also play a role in the development of PV [3]. Nevertheless, PV can appear in individuals with different HLA types and cannot be considered a hereditary disease [10].

The morbidity and mortality of PV is related to the extent of the disease, the drug dose required to eradicate lesions, the age of the patient, the antibody titer, and the presence of comorbidities [2, 7]. Before the introduction of corticosteroids, around 75% of patients died within the first year. Currently, less than 10% of patients die, usually due to secondary effects of the treatment [3,9,11,12].

Etiology

PV results from an autoimmune process in which IgG serum antibodies are produced against normal desmosomal adhesion molecules on the cell membrane of keratinocytes [1]. The serum antibodies responsible for PV are always IgG type, and IgG4 ϵ , ϵ has been associated with the active phase of the disease and IgG1 ϵ , ϵ with the remission phase [6, 10]. However, although the antibodies found in intercellular spaces of the epithelial tissue are usually IgG type, they can also be IgM or IgA types, and complement protein C3 can even be observed [10]. The normal epithelial adhesion molecules implicated are desmoglein 3 and, to a lesser extent, desmoglein 1 (Dsg3 and Dsg1), which belong to the cadherin supergene family

and have a molecular weight of 130 and 160 kDa, respectively [1,7,9,13]. The binding of antibodies to desmoglein at mucosal or cutaneous level gives rise to the loss of cell adhesion, with separation of epithelial layers (acantholysis) and the consequent appearance of blisters on skin or mucosae [1,3]. The presence of antibodies against Dsg3 is associated with an initial pemphigus that predominantly appears in mucosae, whereas the presence of antibodies against both Dsg1 and Dsg3 is associated with a more advanced pemphigus with both cutaneous and oral manifestations [1,3]. This is because the oral mucosa mainly expresses Dsg3, whereas skin expresses Dsg3 and Dsg1. Only mucosal lesions are found at the onset of PV, due to the expression of anti-Dsg3 antibodies. However, as the disease progresses, anti-Dsg1 antibodies are also expressed and cutaneous lesions appear [3,7]. Dsg is the most widely studied autoantigen, but others have been found in patients with PV, including α 9-acetylcholine receptor and pemphaxin [3,5,14].

Although PV is considered an idiopathic disease, a series of environmental factors that trigger the disease have been identified, including medicines (especially thiol-containing drugs, e.g., penicillamine and angiotensin-converting enzyme inhibitors), diet (garlic), and physical or viral agents [1, 3, 10, 15, 16]. Although these are infrequent causes, they should be investigated in patients with a recent diagnosis of PV [10]. No relationship has been reported with previous exposure to the antigen, which is found in mucosal pemphigoid and some other diseases. Numerous studies have demonstrated the contribution of genetic factors to the development of this disease, with reports of its relationship with MHC genes, and

*Corresponding author: Antonio Bascones-Martínez, Department of Medicine and Oral Surgery, Faculty of Dentistry, University Complutense of Madrid, Spain, Pza Ramon y Cajal s/n, 28040, Madrid, Spain; Tel: 34 913942019/34 915334212; Fax: +34 913941910 / +34 915345960; E-mail: antbasco@odon.ucm.es

Received December 13, 2010; Accepted December 28, 2010; Published December 29, 2010

Citation: Bascones-Martínez A, Muñoz-Corcuera M, Bascones-Ilundain C, Esparza-Gómez G (2010) Oral Manifestations of Pemphigus Vulgaris: Clinical Presentation, Differential Diagnosis and Management. *J Clin Exp Dermatol Res* 1:112. doi:10.4172/2155-9554.1000112

Copyright: © 2010 Bascones-Martínez A, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Aceptado para publicación en Medicina Clínica (Barcelona): Bascones-Martínez A, Muñoz-Corcuera M, Bascones-Ilundain C. Manifestaciones clínicas de las hemopatías no neoplásicas en odontología. Med Clin (Barc). 2011

Factor de impacto año 2010: 1.413 (64/153 Medicine, general and internal)

MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LAS HEMOPATÍAS NO NEOPLÁSICAS EN ODONTOLOGÍA

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades sistémicas pueden provocar manifestaciones clínicas en el área oral y maxilofacial, en ocasiones como un signo primario inespecífico de una enfermedad subyacente no diagnosticada. Así, hay diferentes signos a nivel oral que pueden deberse a un trastorno hematológico subyacente, como por ejemplo la palidez, las petequias, las equimosis, las ulceraciones, la hipertrofia gingival o la gingivorragia. El reconocimiento precoz de estas manifestaciones permite un diagnóstico precoz y un tratamiento adecuado de la enfermedad. Por otro lado, el conocimiento de las alteraciones hematológicas va a determinar el manejo odontológico de estos pacientes, ya que en muchas ocasiones será necesario observar un protocolo especial que limite las posibles complicaciones. Este trabajo repasa las manifestaciones clínicas que producen en la cavidad oral las alteraciones no neoplásicas de la serie roja, de la serie blanca y de la hemostasia.

2. ALTERACIONES DE LA SERIE ROJA SANGUÍNEA

La tabla 1 resume los cuadros descritos en este apartado.

2.1 Anemia ferropénica: cursa con sensación de quemazón en la lengua, palidez de la mucosa (especialmente en el paladar blando, lengua y tejidos sublinguales) y atrofia gradual o en placas de las papilas filiformes y fungiformes linguales, de manera que el dorso lingual se muestra liso y brillante¹. Es frecuente la aparición de queilitis angular y candidiasis oral, así como un retraso en la curación de las heridas después de la cirugía bucal. Sin embargo no se considera un factor de riesgo para la aparición de enfermedad periodontal².

2.2 Síndrome de Plummer-Vinson o de Paterson-Kelly: caracterizado por disfagia, anemia ferropénica y membranas esofágicas, presenta las mismas manifestaciones orales que la anemia ferropénica, con glositis, depapilación lingual, xerostomía y queilitis angular. La importancia de diagnosticarlo radica en que se trata de un estado precanceroso porque predispone a la aparición de leucoplasia y carcinoma de células escamosas orofaríngeo^{1,3}.

2.3 Anemia perniciosa o por deficiencia de vitamina B12: La glosodinia y pérdida de gusto son síntomas tempranos. Una característica clásica es la glositis dolorosa de Møeller-Hunter por atrofia gradual de las papilas filiformes y fungiformes que confiere un aspecto liso, rojo y brillante en la superficie dorsal. Más adelante, la lengua pierde tono muscular y aparece roja e inflamada con lesiones eritematosas maculares en la punta y los bordes. Esta glositis ha de diferenciarse de otros cuadros como la glositis atrófica sifilítica, la glosodinia, alergias, diabetes, candidiasis, etc. La mucosa oral puede presentar palidez y atrofia generalizadas. Se observa también queilitis angular, asociada generalmente con la forma atrófica de candidiasis. Otras manifestaciones son disfagia, ulceraciones aftosas recurrentes, máculas eritematosas focales y pigmentación de las mucosas^{1,4}. Las modificaciones a realizar en el

